EINFLUSS VON PHARMAKA AUF DEN STOFFWECHSEL VON GESUNDEM UND ARTHROTISCHEM GELENKKNORPEL IN VITRO UND IN VIVO

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Mathem.-Naturw. Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von
BERND KALKERT
aus
HONIGSESSEN

BONN 1985

UNIV. CALIFORNIA

EINFLUSS VON PHARMAKA AUF DEN STOFFWECHSEL VON GESUNDEM UND ARTHROTISCHEM GELENKKNORPEL IN VITRO UND IN VIVO

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Mathem.-Naturw. Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von
BERND KALKERT
aus
HONIGSESSEN

BONN 1985

Die vorliegende Arbeit wurde mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät im Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Bonn unter Leitung von Herrn Professor Dr. D.A. Kalbhen angefertigt.

1. Referent: Prof. Dr. D.A. Kalbhen
2. Referent: Prof. Dr. G. Rücker

Tag der mündlichen Prüfung: 11. Februar 1985

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
Kom. Direktor: Prof. Dr. K. Karzel

Druck: Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn 1985

PETRA UND BENEDIKT GEWIDMET

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546503_0009

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	10
1.1. EINLEITUNG	10
1.1.1. DER GELENKKNORPEL	10
1.1.2. BIOCHEMIE DES HYALINEN KNORPELS	11
1.1.2.1. Die Zusammensetzung der Knorpelgrundsubstanz	11
1.1.2.2. Struktur der Proteoglykane	13
1.1.2.3. Biosynthese der Proteoglykane	17
1.1.2.3.1. Chondroitinsulfat	18
1.1.2.3.2. Keratansulfat	20
1.1.2.4. Metabolische Kontrolle der Proteoglykanbiosynthese	22
1.1.2.5. Struktur des Kollagens	23
1.1.2.6. Biosynthese des Kollagens	24
1.2. PROBLEMSTELLUNG	26
2. MATERIAL UND METHODEN	29
2.1. MATERIAL	29
2.1.1. GELENKKNORPEL	29
2.1.1.1. Tiermaterial	29
2.1.1.2. Humanes Knorpelgewebe	29
2.1.2. VERWENDETE SUBSTANZEN, CHEMIKALIEN, REAGENZIEN UND GERÄTE	30
2.1.2.1. Verwendete Substanzen	30
2.1.2.2. Reagenzien und Chemikalien	35
2.1.2.2.1. Inkubation	35
2.1.2.2.2. Histologie und Mikroskopie	35
2.1.2.2.3. Autoradiographie	36
2.1.2.3. Geräte	37
2.1.2.3.1. Applikationsmaterial	37
2.1.2.3.2. Präparationsmaterial	37
2.1.2.3.3. Inkubation	37
2.1.2.3.4. Histologie und Mikroskopie	38
2.1.2.3.5. Autoradiographie	38

Seite

2.2. METHODIK 39

2.2.1. THEORIE UND PRAXIS DER AUTORADIOGRAPHIE 39

2.2.1.1. Der Einsatz autoradiographischer Methoden 39

2.2.1.2. Besonderheiten der quantitativen Autoradiographie 41

2.2.1.3. Histologische Technik und Autoradiographie 42

2.2.1.4. Beschreibung der autoradiographischen Technik 44

2.2.1.5. Mikroskopie, Datensammlung und Auswertung der Autoradiogramme 48

2.2.1.5.1. Mikroskopie 48

2.2.1.5.2. Datensammlung 54

2.2.1.5.3. Auswertung und Statistik 66

2.2.2. IN-VITRO-UNTERSUCHUNGEN 69

2.2.2.1. Vorversuch zur Ermittlung der Inkubationszeit 69

2.2.2.2. Versuchsablauf 71

2.2.2.3. Tierisches Gelenkknorpelgewebe 72

2.2.2.3.1. NSAID 72

2.2.2.3.2. Glukokortikoide 72

2.2.2.3.3. Antiarthrotika 73

2.2.2.4. Humanes Gelenkknorpelgewebe 74

2.2.2.4.1. NSAID 74

2.2.2.4.2. Glukokortikoide 74

2.2.3. IN-VITRO-INKORPORATION NACH IN-VIVO-APPLIKATION DER ZU UNTERSUCHENDEN SUBSTANZ 75

2.2.3.1. Kurzzeit-Versuche 75

2.2.3.1.1. NSAID 75

2.2.3.1.2. Glukokortikoide 75

2.2.3.1.3. Antiarthrotika 76

2.2.3.2. Langzeit-Versuche 76

2.2.3.2.1. NSAID 76

2.2.3.2.2. Glukokortikoide 77

2.2.4. ^{3}H-MJA-VERTEILUNGSSTUDIE IN VIVO 78

	Seite
3. ERGEBNISSE	79
3.1. VORVERSUCHE ZUR METHODIK	79
3.1.1. VORVERSUCHE ZUR ABLEITUNG EINES HISTOAUTORADIOGRAPHISCHEN STANDARDVERFAHRENS	79
3.1.1.1. Einfluß histologischer Fixierungsmittel	79
3.1.1.2. Ermittlung der optimalen Expositionszeit und radioaktiven Konzentration	81
3.1.1.3. Entwicklungsbedingungen in Kodak D 19 Developer	85
3.1.1.4. Trocknungs- und Expositionsbedingungen	88
3.1.1.5. Gleichmäßigkeit und Reproduzierbarkeit der Emulsionsschicht unter "dipping"-Bedingungen	90
3.1.2. VORVERSUCH ZUR ERMITTLUNG DER INKUBATIONSZEIT	92
3.2. ERGEBNISSE AUS DEN HAUPTVERSUCHEN IN VITRO	95
3.2.1. TIERISCHES GELENKKNORPELGEWEBE	95
3.2.1.1. NSAID	95
3.2.1.1.1. Indometacin	95
3.2.1.1.2. Natrium-Salicylat	96
3.2.1.2. Glukokortikoide	97
3.2.1.2.1. Dexamethason-o-phosphat	97
3.2.1.3. Antiarthrotika	98
3.2.1.3.1. Glykosaminoglykanpolysulfat (GAGPS)	98
3.2.1.3.2. DAK-16	101
3.2.1.3.3. Pentosanpolysulfat	103
3.2.1.3.4. Oxaceprol	107
3.2.1.3.5. Oxaceprol - GAGPS - Kombination	109
3.2.1.4. Untersuchungen zur Aufnahme und Lokalisation von ^{14}C-MJA und ^{3}H-GAGPS	111
3.2.1.4.1. Aufnahme von ^{14}C-MJA in den Gelenkknorpel in vitro	111
3.2.1.4.2. Aufnahme von ^{3}H-GAGPS in den Gelenkknorpel in vitro	112

Seite

3.2.2. HUMANES KNORPELGEWEBE 114

3.2.2.1. NSAID 114

3.2.2.1.1. Diclofenac-Na 114

3.2.2.1.2. Orgotein 115

3.2.2.1.3. Orgotein-GAGPS-Kombination 116

3.2.2.2. Glukokortikoide 117

3.2.2.2.1. Dexamethason-o-phosphat 117

3.2.2.2.2. Dexamethason-GAGPS-Kombination 118

3.3. IN-VITRO-UNTERSUCHUNGEN NACH IN-VIVO-APPLIKATION 119

3.3.1. KURZZEIT-VERSUCHE 119

3.3.1.1. NSAID 119

3.3.1.1.1. Natrium-Salicylat (Na-Salicylat) 119

3.3.1.1.2. Diclofenac-Na 122

3.3.1.1.3. Indometacin 125

3.3.1.2. Glukokortikoide 129

3.3.1.1.1. Triamcinolonhexaacetonid 129

3.3.1.3. Antiarthrotika 131

3.3.1.3.1. Glykosaminoglykanpolysulfat (GAGPS) 131

3.3.1.3.2. DAK-16 133

3.3.1.3.3. Oxaceprol 135

3.3.2. LANGZEIT-VERSUCHE 138

3.3.2.1. NSAID 138

3.3.2.1.1. Diclofenac-Na 138

3.3.2.1.2. Fenbufen 141

3.3.2.2. Glukokortikoide und Kombinationen 143

3.3.2.2.1. Dexamethason-o-phosphat-GAGPS 143

3.3.2.2.2. Dexamethason-o-phosphat-DAK-16 145

Seite

3.4. ^{3}H-MONOJODACETAT-VERTEILUNGSSTUDIE IN VIVO 147

4. DISKUSSION 149

4.1. EINFLUSS VON PHARMAKA AUF ANABOLE PROZESSE DES KNORPELSTOFFWECHSELS 149

4.1.1. NSAID 149

4.1.2. GLUKOKORTIKOIDE 160

4.1.3. ANTIARTHROTIKA 165

4.1.4. EINFLUSS VON DAK-16 ODER GAGPS AUF DIE MIT DEXAMETHASON-O-PHOSPHAT EXPERIMENTELL AUSGELÖSTE ARTHROSE 174

4.2. BEEINFLUSSUNG HUMANEN KNORPELGEWEBES DURCH STEROIDALE UND NICHTSTEROIDALE ANTIPHLOGISTIKA 177

4.3. LOKALISATION VON RADIOMARKIERTEM MONOJODACETAT UND ^{3}H-ARTEPARON INNERHALB DES KNORPELS 179

5. ZUSAMMENFASSUNG 183

6. LISTE DER VERWENDETEN ABKÜRZUNGEN 190

7. LITERATURVERZEICHNIS 192

8. PHOTOGRAPHISCHER ANHANG 219

9. TABELLARISCHER ANHANG 233

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

1.1. EINLEITUNG

In der vorliegenden Arbeit beschäftigen wir uns mit biochemisch-pharmakologischen Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Pharmaka und Substanzen auf die synthetischen Leistungen der Knorpelzellen in tierischem und menschlichem Gelenkknorpel. Bevor wir die verwendeten Methoden und erzielten Versuchsergebnisse darstellen, erscheint es uns sinnvoll, kurz auf die strukturellen und biochemischen Eigenschaften des Gelenkknorpels sowie auf die Syntheseleistungen der Knorpelzellen einzugehen. Hierbei sollen vorwiegend solche metabolische Reaktionen beschrieben werden, die für die Synthese der Knorpelmatrix von Interesse sind.

1.1.1. DER GELENKKNORPEL

Der Gelenkknorpel besteht aus den Knorpelzellen oder Chondrozyten, die in der von ihnen gebildeten extrazellulären Grundsubstanz oder Matrix liegen.
Im hyalinen Knorpel machen diese Zellen nach AMADO (3) nur ca. 5 % des totalen Gewebevolumens aus.
Mehrere zusammengelagerte Knorpelzellen, die sich postmitotisch mit einem basophilen Knorpelhof umgeben haben, bezeichnet man als Chondrone.
Die Chondrozyten verfügen über alle Enzyme, die für den Energiestoffwechsel und die Biosynthese der Matrixsubstanz benötigt werden und sorgen für die Bildung und Erhaltung der extrazellulären Bestandteile.
Die für die Syntheseleistung erforderliche Energie gewinnen die Knorpelzellen durch anaerobe Glykolyse, d.h. dem Abbau von Glukose zu Laktat.

1.1.2. BIOCHEMIE DES HYALINEN KNORPELS

1.1.2.1. Die Zusammensetzung der Knorpelgrundsubstanz

Die extrazelluläre Matrix besteht neben Wasser hauptsächlich aus Kollagen und den Proteoglykanen (Tab. 1).

Tabelle 1: Quantitative Zusammensetzung der Hauptkomponenten des Knorpels (nach AMADO (3); TS bedeutet Trockensubstanz)

Wasser	ca. 65 %
Kollagen	ca. 60 - 65 % TS
Protein (Nichtkollagen)	ca. 12 - 15 % TS
Glykosaminoglykane	ca. 20 - 25 % TS
Lipide	ca. 0.5 % TS
Metallionen	ca. 1.0 % TS

Die Proteoglykane - aus einem Protein- und Glykosaminoglykananteil zusammengesetzt - sind die Bestandteile, die hauptsächlich zu der Elastizität des Gelenkknorpels beitragen.
Glykosaminoglykane, früher Mucopolysaccharide genannt, sind lange unverzweigte Kohlenhydrate aus 100 - 1000 sich wiederholenden Disaccharideinheiten. Bei einem der Zucker handelt es sich um Glucosamin oder Galaktosamin, bei dem anderen um eine Hexuronsäure oder im Falle des Keratansulfates um Galaktose. Außer der Hyaluronsäure sind alle Glykosaminoglykane mehr oder weniger sulfatiert (Abb. 1, 2, 3). Die Menge der negativen Ladungen an Hydroxyl- und Carboxylgruppen macht die Proteoglykane extrem hydrophil und erklärt ihre hohe Wasserbindungskapazität von 100 - 400 ml H_2O pro Gramm Proteoglykan (16).

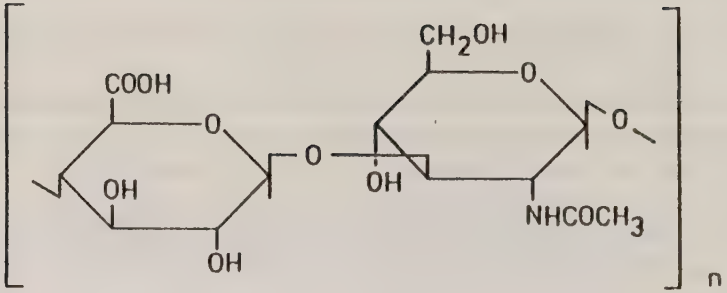


Abbildung 1: Disaccharideinheit der Hyaluronsäure

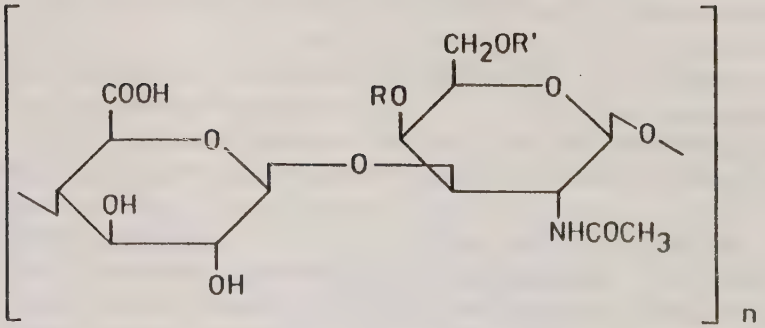


Abbildung 2: Disaccharideinheit der Chondroitinsulfate
Chondroitin-4-Sulfat: R = SO_3H; R' = H
Chondroitin-6-Sulfat: R = H ; R' = SO_3H

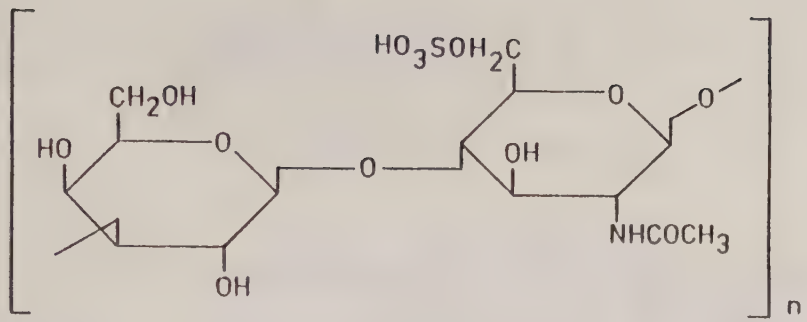


Abbildung 3: Disaccharideinheit des Keratansulfates

Die durchschnittliche Größe und Zusammensetzung der Proteoglykane variiert sowohl mit dem Typ des Knorpels und zwischen verschiedenen anatomischen und histologischen Zonen innerhalb eines Gelenkes, als auch von Spezies zu Spezies und mit dem Alter des Individuums (141).

1.1.2.2. Struktur der Proteoglykane

Wie in der Abb. 4 schematisch dargestellt, bestehen die Proteoglykane aus einem Protein-Core (MG $2x10^5$-$3x10^5$), an das bis zu 100 Chondroitinsulfat-Ketten (MG $2x10^4$) und eine varibale Zahl von Keratansulfat-Ketten kovalent gebunden sind (O-glykosidische und N-glykosidische Bindungen, Abb. 5) (87,141).

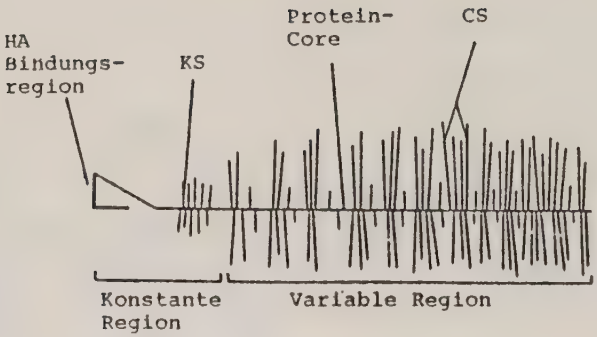
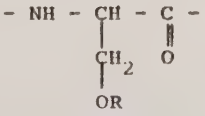
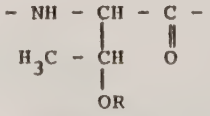


Abbildung 4: Diagramm eines Proteoglykanmoleküls (n. 149)
CS = Chondroitinsulfat
HA = Hyaluronsäure
KS = Keratansulfat

O-glykosidisch

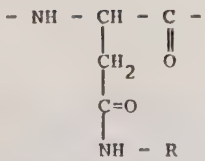


Serin



Threonin

N-glykosidisch



Asparagin

Abbildung 5: Zucker-Peptid-Bindungen. (Der Rest R soll den Zuckersubstituenten darstellen (175).

Ungefähr ein Drittel des Protein-Core bildet eine globuläre Struktur, an die nur wenige oder keine Polysaccharide gebunden sind. Diese Region vermag spezifisch mit Hyaluronsäure zu interagieren und wird Hyaluronsäure-Bindungsregion genannt (Abb. 4). Durch Bindung von verschiedenen individuellen Proteoglykan-Monomeren an ein Hyaluronsäuremolekül entstehen hochmolekulare Aggregate (Abb. 6).

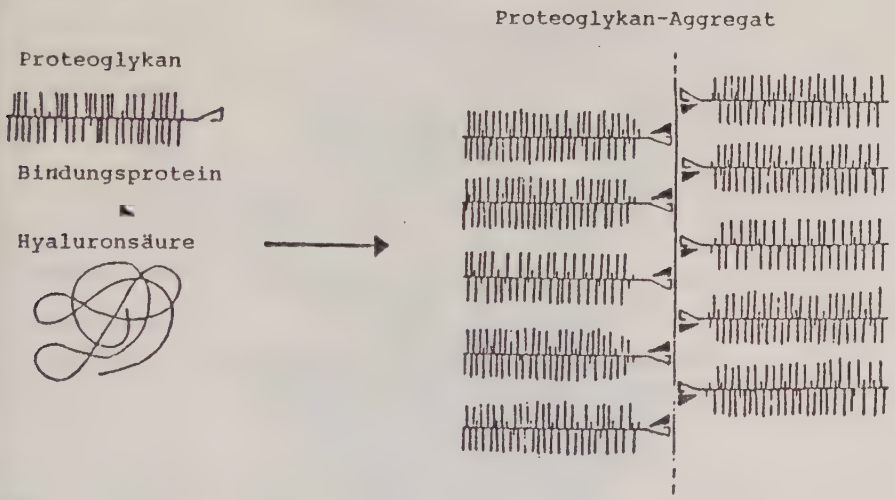
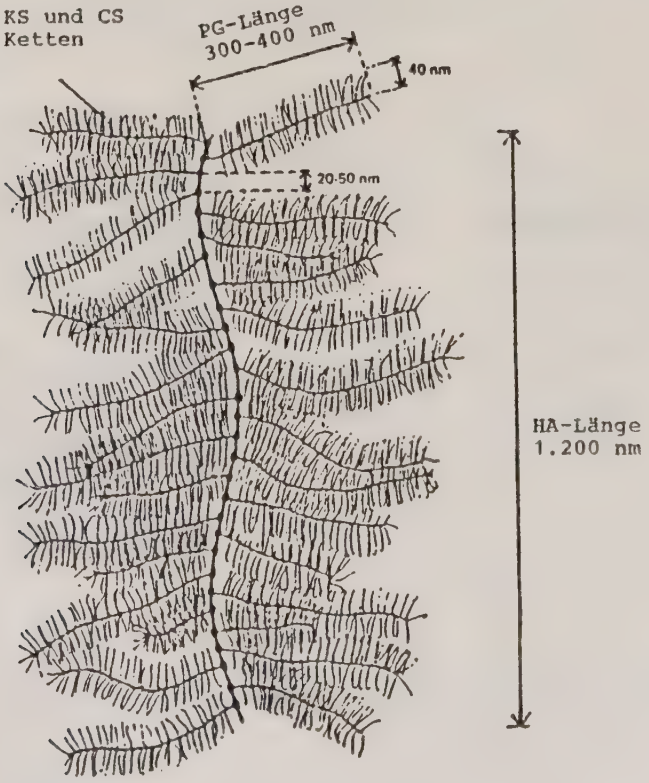


Abbildung 6: Darstellung der Proteoglykan-Aggregation (n.149)

Die Aminosäurenkomposition der HA-Bindungsregion differiert signifikant von der des gesamten Coreproteins. Sie enthält nach HEINEGARD (76) insbesondere mehr Asparaginsäure, Arginin, Methionin und Cystin und weniger Serin, Glycin und Prolin. In Abb. 7 ist ein Ausschnitt aus einem Proteoglykan-Hyaluronat-Aggregat schematisch dargestellt.



Proteoglykan:Molekulargewicht 2,5 x 10^6
Hyaluronsäure: Molekulargewicht 0,5 x 10^6

Abbildung 7 : Modell des Proteoglykan-Hyaluronsäure-Komplexes (n.149)
HA = Hyaluronsäure, CS = Chondroitinsulfat,
KS = Keratansulfat, PG = Proteoglykan

1.1.2.3. Biosynthese der Proteoglykane

Ausgangspunkt für die Synthese der monomeren Bausteine der Glykosaminoglykane scheint in allen Fällen Glucose zu sein (Abb. 8).

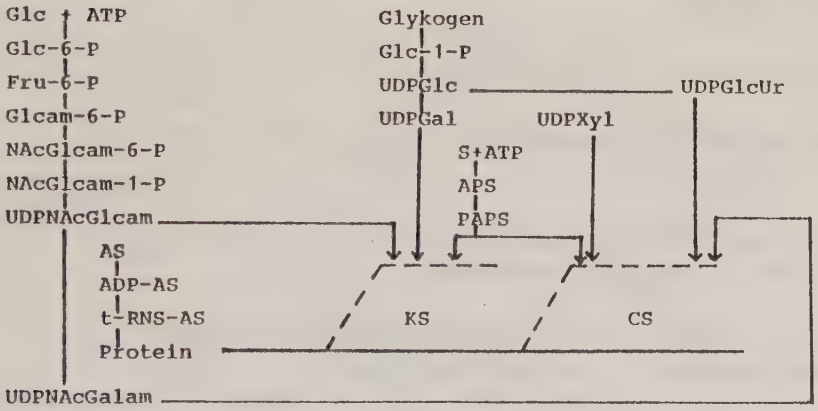


Abbildung 8 : Biosynthese der Knorpelglykosaminoglykane (n. 3)

ADP = Adenosindiphosphat
APS = Adenosinphosphosulfat
AS = Aminosäure
ATP = Adenosintriphosphat
CS = Chondroitinsulfat
Fru = Fructose
Gal = Galaktose
Galam = Galaktosamin
Glc = Glucose
Glcam = Glucosamin
KS = Keratansulfat
NAc = N-Acetyl
P = Phosphat
PAPS = Phospho-Adenosinphospho-sulfat (aktiviertes Sulfat)
t-RNS = Transfer-Ribonucleinsäure
UDP = Uridindiphosphat
Xyl = Xylose

Nach den in vitro-Untersuchungen von CAMPO und DZIEWIATKOWSKI (23) und den in vivo-Studien von GROSS et al. (72) werden die Protein- und Kohlenhydratanteile der Proteoglykane gleichzeitig gebildet, wobei die Bildung des Protein-Core den ersten Schritt in der Biosynthese darstellt (195).

GREILING (68) unterscheidet schematisch fünf Phasen der Proteoglykan-Synthese:

1. Die Biosynthese des Protein-Core.

2. Die Synthese der Bindungsregion zwischen Protein-Core und Polysaccharidkette.

3. Die alternierende Polymerisation der Polysaccharidkette aus den aktivierten Uridinpräkursoren.

4. Die enzymatische Bildung der Sulfatester der Polysaccharide unter Verwendung von aktiviertem Sulfat.

5. Die Kettenbeendigung durch Einführung von Neuraminsäure oder Fucose.

1.1.2.3.1. Chondroitinsulfat

Der erste Schritt der Chondroitinsulfatsynthese ist nach RODEN (164, 165) der Transfer von Xylose, dem ersten Zucker der Bindungsregion, auf den Serinrest des Protein-Core durch eine Xylosyltransferase (Abb. 10). Xylose wird hierbei kovalent durch eine glykosidische Bindung an die OH-Gruppe des Serins gebunden. Nach Übertragung von zwei Galaktosemolekülen startet die Kettenelongation mit Bindung von Glukuronsäure an den zweiten Galaktoserest durch alternierende Bindung von N-Acetylgalaktosamin und Glukuronsäure. Die Bindungsregion des Chondroitinsulfates ist demnach ein Trisaccharid mit der Zuckersequenz: Xylose-Galaktose-Galaktose (Abb. 11).

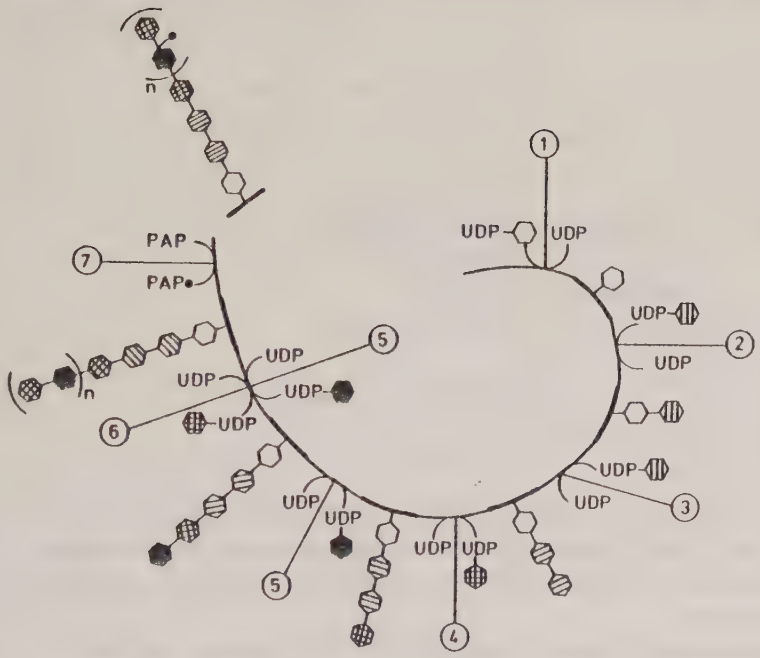


Abbildung 10: Biosynthese von Chondroitin-4-Sulfat (n. 164,165)

1 Xyl-Transferase
2 Gal-Transferase 1
3 Gal-Transferase 2
4 GlcUr-Transferase 1
5 NAcGalam-Transferase
6 GlcUr-Transferase 2
7 Sulfotransferase

Protein
Xylose
Galaktose
Glukuronsäure
N-Acetylgalaktosamin
Sulfat

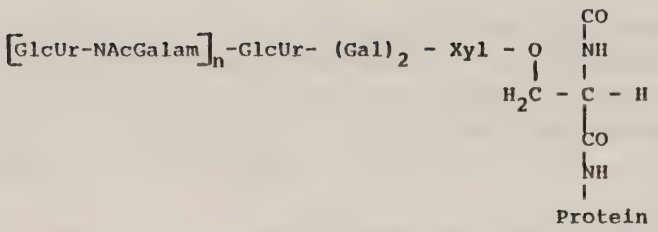


Abbildung 11: Verknüpfungsregion Chondroitinsulfat-Protein

GlcUr = Glukuronsäure

Gal = Galaktose

Xyl = Xylose

NAcGalam = N-Acetylgalaktosamin

HELTING und RODEN (77) haben gezeigt, daß die Bindung der drei Zucker der Bindungsregion und des ersten Glukuronsäuremoleküls der Chrondroitinsulfatkette selbst durch verschiedene spezifische Enzyme erfolgt.
Die Bindungsregion stellt deshalb einen Mechanismus für die Koordination der Chondroitinsulfatsynthese und der Synthese des Proteinanteiles dar. Die Chondroitinsulfatsynthese beginnt nur, wenn das Protein-Core bereits vorhanden ist und der erste Zucker (Xylose) übertragen werden kann.

1.1.2.3.2. Keratansulfat

Die Kernregion von N-glykosidischen Glykoproteinen (siehe Abb. 12) ist seit langem bekannt (175).

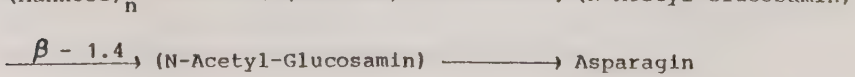


Abbildung 12: Kernregion von N-glykosidischen Glykoproteinen

Erst vor einigen Jahren konnte von GREILING (68) die Enzymsequenz für die Biosynthese von Proteokeratansulfat aufgeklärt werden (Abb. 13).

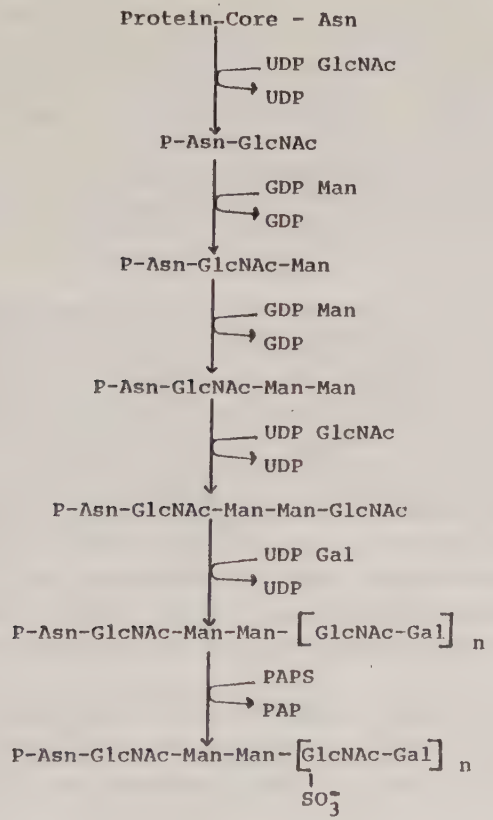


Abbildung 13: Enzymsequenz für die Biosynthese von Proteokeratansulfat (n. 68).

Asn	= Asparagin	P	= Protein-Core
Gal	= Galaktose	PAP	= Phosphoadenosinphosphat
GDP	= Guanidindiphosphat	PAPS	= Phosphoadenosinphosphosulfat (aktiviertes Sulfat)
GlcNAc	= N-Acetylglucosamin		
Man	= Mannose	UDP	= Uridindiphosphat

1.1.2.4. Metabolische Kontrolle der Proteoglykanbiosynthese

Die Chondrozyten scheinen auf einen Proteoglykanverlust aus der sie umgebenden Matrix mit einer gesteigerten Synthese zu reagieren. Dies konnte an Organkulturen von embryonalem Hühnerknorpel mit Papain (BOSMANN, 18) oder Hyaluronidase (FITTON-JACKSON, 59) gezeigt werden. Die Zellen besitzen demnach einen sensitiven Mechanismus zur Beurteilung der chemischen Zusammensetzung der Matrix. Die gleiche Reaktion findet auch in vivo statt: intravenöse Papain-Injektion verursacht einen Verlust an Chondroitinsulfat aus Knorpelgewebe, mit anschließendem substantiellen Ersatz (135).

Man vermutet, daß die geringen Mengen an Hyaluronsäure im Knorpel sowohl die Proteoglykanbiosynthese als auch deren Aggregation steuern. Wie WIEBKIN und MUIR (201) zeigten, reduziert Hyaluronsäure die Proteoglykansynthese durch isolierte Chondrozyten in Kultursuspensionen. Der inhibitorische Effekt war auf Chondrozyten beschränkt. Synovialis-Fibroblasten reagierten nicht in diesem Sinne. WIEBKIN et al. (202) halten als Erklärung eine Interaktion von Hyaluronat mit einer Proteoglykankomponente der Zelloberfläche für möglich. HANDLEY und LOWTHER (75) nehmen an, daß durch die Hyaluronsäure entweder die Synthese des Protein-Core erniedrigt, oder die Aktivität der Xylosyltransferase unterdrückt wird.
Neuere Untersuchungen von SANDY et al. (177) lassen jedoch vermuten, daß die Xylosyltransferase nicht von kritischer Bedeutung für die Kontrolle der Proteoglykansynthese im Gelenkknorpel ist.

1.1.2.5. Struktur des Kollagens

Das Bauelement der Kollagenfaser ist das Kollagenmolekül. Viele Kollagenmoleküle aggregieren in charakteristischer Weise zu Kollagenfibrillen, die mit Proteoglykanen in Wechselwirkung treten, wodurch die Flexibilität sowie die besonderen Stütz- und Gleiteigenschaften des Gewebes entstehen. Wie bereits 1925 von BENNINGHOFF (14) beschrieben und kürzlich von ZAMBRANO et al. (206) bestätigt, bilden die kollagenen Faserproteine ein arkadenartiges Stützgerüst. Im gesunden Knorpel sind diese Strukturen lichtmikroskopisch nicht sichtbar, da sie wegen ihrer optischen Eigenschaften und der sie umgebenden Glykosaminoglykane maskiert sind.
Alle Kollagenmoleküle bestehen aus drei Polypeptidketten, von denen mindestens zwei untereinander identisch sind. Diese werden als α_1- und α_2-Ketten bezeichnet. Durch verschiedenartige Kombinationen dieser Ketten und infolge ihres unterschiedlichen Gehaltes an Hydroxylysin und Kohlenhydraten entstehen verschiedene Kollagentypen. Über die Zusammensetzung und das Vorkommen der Kollagentypen gibt Tabelle 2 Auskunft.

Tabelle 2: Molekulare Zusammensetzung und Vorkommen der Kollagentypen

Typ	Molekül	Vorkommen
I	$[\alpha_1\ (I)]_2\ \alpha 2$	Haut, Sehne, Knochen, Gefäße, parenchymatöse Organe
II	$[\alpha_1\ (II)]_3$	hyaliner Knorpel
III	$[\alpha_1\ (III)]_3$	wie Typ I Kollagen, außer Knochen
IV	$[\alpha_1\ (IV)]_3$	Basalmembran
V	$\alpha A\ (\alpha B)_2$	Basalmembran, Muskulatur

Die Aminosäuren Prolin und Hydroxyprolin erzwingen eine spiralige Anordnung der einzelnen Kette, in der jede Windung ein Tripeptid enthält. Drei solcher Ketten schließen sich tauartig zusammen und bilden die als Tropokollagen bezeichnete Tripelhelix. Auf dem Wege zu den physiologisch wichtigeren, höheren Strukturen des Kollagens treten die Moleküle zunächst zu den sogenannten Mikrofibrillen zusammen. Die Zusammenlagerung der Moleküle wird gesteuert durch die Aminosäuresequenz und zwar sind die polaren, geladenen Aminosäuren wie Arginin, Lysin, Glutaminsäure und Asparaginsäure sowie die hydrophoben Aminosäuren wie Valin, Leucin, Isoleucin, Phenylalanin und Methionin so entlang der α-Kette verteilt, daß es bei einer axialen Versetzung der Moleküle um 67 nm zu einer maximalen polaren und hydrophoben Interaktion zwischen den benachbarten Molekülen kommt. Im Elektronenmikroskop weist eine Fibrille aus Knorpelkollagen deshalb in der Achsenrichtung eine Periodizität von 67 nm auf.

1.1.2.6. Biosynthese des Kollagens

Die Kollagensynthese erfolgt in mehreren Stufen und beginnt intrazellulär in den Chondrozyten. Der intrazellulären Synthesephase folgt eine extrazelluläre Synthesephase, in deren Verlauf die Kollagenfibrille vervollständigt wird. Im folgenden sind die einzelnen Syntheseschritte schematisch dargestellt.

1. Bildung von Prokollagen an den Polysomen
2. Zusammenlagerung der linksgewundenen α-Ketten des Prokollagens zur rechtsgewundenen Tripelhelix (Disulfidbrücken, Wasserstoffbindungen)
3. Hydroxylierung von Prolin- und Lysinresten
4. O-glykosidische Bindung von Galaktose und Glucose an die Hydroxylysinreste und Übertritt der Tripelhelix in den Extrazellulärraum
5. Bildung von Tropokollagen durch Abspaltung von drei etwa 150 Aminosäurereste umfassende endständige Peptidketten mittels einer Prokollagen-Peptidase

6. Zusammenlagerung dieser Tripelhelices zu langen Kollagenfibrillen
7. Ausbildung kovalenter Quervernetzungen, in dem an den C- und N-terminalen Bereichen der einzelnen Ketten einige Lysin- und Hydroxylysinreste oxidativ desaminiert werden

Dabei entstehen durch die Katalyse einer kupferhaltigen Lysyloxidase Aldehyde, die mit anderen Aldehyden oder mit den ε-Aminogruppen von Lysinresten anderer Ketten kovalente Quervernetzungen in Form von Aldol- oder Aldiminverbindungen bilden können. Die so entstehenden C-N-Doppelbindungen sind zunächst noch labil und werden durch Amadori-Umlagerung in eine stabile Quervernetzung übergeführt.

1.2. PROBLEMSTELLUNG

Im Rahmen der Arthroseforschung in unserem Institut wurde zur Prüfung anti-degenerativer Wirkstoffe ein tierexperimentelles Arthrosemodell entwickelt (100),bei dem die progressive Gelenkdegeneration durch eine lokale Verabreichung spezifischer Stoffwechselinhibitoren ausgelöst wird.
Verschiedene sogenannte chondroprotektive Wirksubstanzen zeigten in dieser Versuchsanordnung ausgesprägte antiarthrotische Potenzen. Demgegenüber erwiesen sich bestimmte nichtsteroidale Antirheumatika (NSAID) sowie Kortikosteroide als nicht geeignet, einen biochemisch induzierten Degenerationsprozeß aufzuhalten oder zu verlangsamen. Die lokale Applikation von Pharmaka, wie z.B. Natrium-Salicylat, Phenylbutazon oder Indometacin, führte überraschender Weise zu einer Intensivierung der arthrotischen Knorpelzerstörung (80, 101, 185). Andererseits erzeugte Diclofenac-Na nach intraartikulärer Applikation keinerlei degenerative Veränderungen in Gelenkknorpel und ließ bei intramuskulärer Verabreichung sogar deutliche antiarthrotische Effekte erkennen. Aus diesen Befunden, die auch von anderen Arbeitsgruppen in verschiedenen Versuchsanordnungen bestätigt wurden, läßt sich ableiten, daß die verschiedenen nichtsteroidalen Antiphlogistika unterschiedliche Wirkungen auf das artikuläre Knorpelgewebe ausüben können und daher auch bei der Therapie degenerativer Gelenkerkrankungen differenziert eingesetzt werden sollten. Über die Ursache dieses unterschiedlichen Verhaltens der NSAID sowie über Angriffspunkte und Wirkungsmechanismen sowohl der genannten als auch der in der Arthrosetherapie verwendeten chondroprotektiven Substanzen liegen zur Zeit nur wenige experimentelle Befunde vor.

Während in unserem Institut in sehr zahlreichen pharmakologischen In-vivo-Studien am Versuchstier mit Hilfe röntgenologischer, histologischer und makroskopischer Methoden die antiarthrotischen Effekte verschiedener Wirkstoffe und auch knorpelschädigende Einflüsse anderer Pharmaka eingehend aufgezeigt und bestätigt wurden,

liegen nur wenige und auch nur unzureichende Befunde vor, die einen Einblick in die molekularen oder biochemischen Wirkungsmechanismen gewähren. Spezifische histologische und histochemische Arbeiten (80,185) über Veränderungen der strukturellen Zusammensetzung der Knorpelmatrix sowie eine enzymhistologische Studie (125) über die Aktivität bestimmter kataboler Enzyme im Knorpelgewebe haben weitere Erkenntnisse zum Einfluß von Kortikosterioden,NSAID sowie von einigen antiarthrotisch wirksamen Substanzen geliefert.

Da sich der Einfluß von Pharmaka auf das artikuläre Knorpelgewebe nicht nur auf den Abbau der Bindegewebsgrundsubstanzen, sondern auch auf die synthetische Leistung der Knorpelzellen und somit auf den Aufbau der Knorpelmatrix erstrecken kann, gewinnen solche Untersuchungen an Bedeutung, die eine quantitative Erfassung der anabolen Stoffwechselleistungen der Chondrozyten ermöglichen. Von den meisten antirheumatisch wirksamen Substanzen ist der genaue intrazelluläre bzw. extrazelluläre Angriffspunkt im Proteoglykanstoffwechsel nicht bekannt. Die verschiedenen anabolen oder katabolen Prozesse, die durch die genannten Wirksubstanzen beeinflußt werden können, sind nach KLEESIEK et al. (114):

1. Die Transkription des Coreprotein-Gens
2. Die ribosomale Protein-Core-Synthese der Proteoglykane
3. Die Synthese der Glykosaminoglykanketten
4. Die Sekretion von Glykosaminoglykanen und Proteoglykanen in den Extrazellulärraum.
5. Die adsorptive Pinozytose der genannten Makromoleküle
6. Der Abbau der Proteoglykane durch Proteinasen, Glykosidasen, Sulfatasen und Radikale.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, den modulatorischen Effekten einiger steroidaler und nichtsteroidaler Antiphlogistika sowie einiger potentiell chondroprotektiver Pharmaka auf den Glykosaminoglykanstoffwechsel nachzugehen und damit einen Beitrag zur Aufklärung der pharmakologischen Wirkungsweise dieser Substanzen zu liefern.

Zur quantitativen Erfassung der synthetischen Stoffwechselleistungen der Knorpelzellen sollte eine autoradiographische Methodik entwickelt und die Brauchbarkeit der Methodik geprüft werden. Als Untersuchungsmaterial stand uns humanes und tierisches Gelenkknorpelgewebe zur Verfügung. Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit beabsichtigen, zu den tierexperimentellen Befunden die metabolischen Aktivitäten und hier vor allem die anabolen Stoffwechselprozesse des Gelenkknorpels und ihre Beeinflussung durch Pharmaka quantitativ zu erfassen. Daneben sollen auch einige Analysen der Verteilung von inhibitorischen und chondroprotektiven Substanzen innerhalb der zellulären und extrazellulären Kompartimente des Knorpelgewebes durchgeführt werden.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. MATERIAL

2.1.1. GELENKKNORPEL

Bei den untersuchten Knorpelgeweben handelt es sich um Kniegelenkknorpel humanen und animalischen Ursprungs.

2.1.1.1. Tiermaterial

Es wurden adulte Hühner der Rasse "weiße Babcock" (amerikanische Hybriden) verwendet, die im Alter von ca. 24 Monaten von der Hühnerfarm "Geflügelzucht Theissen", 5042 Erftstadt-Dimerzheim bezogen wurden.
Um allen Tieren Gelegenheit zur Anpassung an die veränderten Lebensbedingungen zu geben, hielten wir die Hühner vor Versuchsbeginn 10 Tage lang im Freiluftgehege. Gefüttert wurde mit Hühner Vollkraftkorn LAP 50 der Firma Höveler, 4018 Langenfeld, und Wasser ad libitum.

Für die Untersuchungen verwendeten wir die anatomisch intakt gelassene Struktur der Femurkondylen beider Beine, wobei die Kondylen des rechten Beines als Kontrollen dienten.

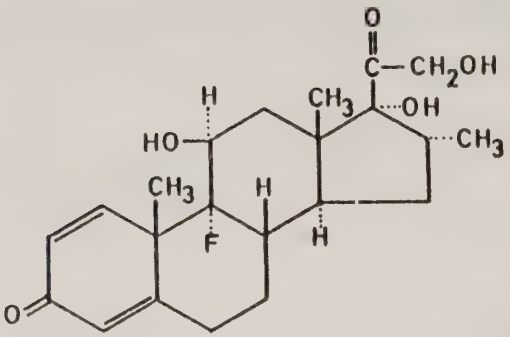
2.1.1.2. Humanes Knorpelgewebe

Menschliches Knorpelgewebe stellte uns freundlicherweise Herr Professor Dr. G. BIEHL, Franziskus-Hospital, 5000 Köln 30, zur Verfügung. Die 0,7 - 1 g schweren Knorpelstücke wurden von 23 Patienten (Alter 22 - 59 Jahre, Median 35,5 Jahre, 9 weibliche, 14 männliche) anläßlich einer Meniskektomie aus dem rechten (11) oder linken (12) medialen Kondylus entnommen.
Um möglichst viele Versuchsreihen mit dem nur begrenzt zur Verfügung stehenden Material durchführen zu können, mußten die Gewebeproben je nach Gewicht in 3 bis 5 Teile zerlegt werden.

2.1.2. VERWENDETE SUBSTANZEN, CHEMIKALIEN, REAGENZIEN UND GERÄTE

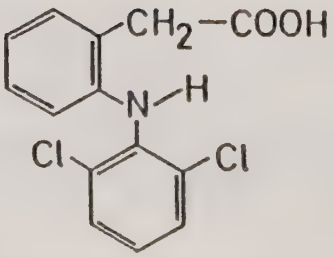
2.1.2.1. Verwendete Substanzen

Arteparon^{R}, GAGPS	handelsübliche Ampulen der Firma Luitpold, München
^{3}H-Arteparon,	Firma Luitpold, München
DAK-16,	hochmolekulare Komponente des Rumalon^{R} der Firma Robapharm, Basel
Dexamethason-21-O-phosphat,	Dinatriumsalz, Firma E. Merck, Darmstadt



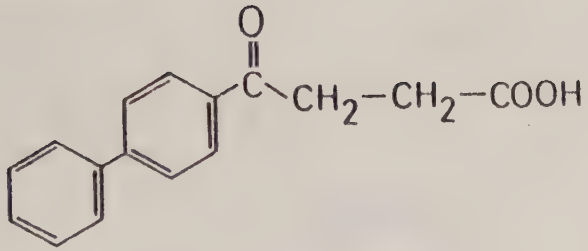
Dexamethason

Diclofenac-Natrium	Firma Ciba-Geigy, Wehr



Fenbufen

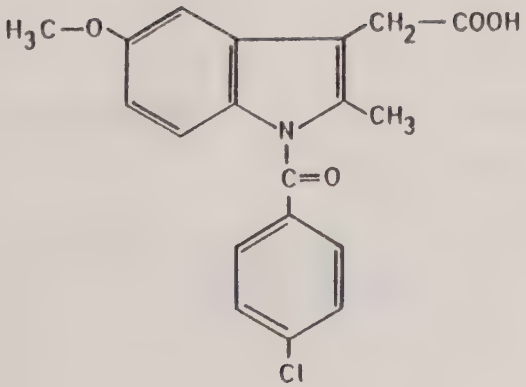
Fa. Cyanamid,Wolfratshausen



Fenbufen

Indometacin

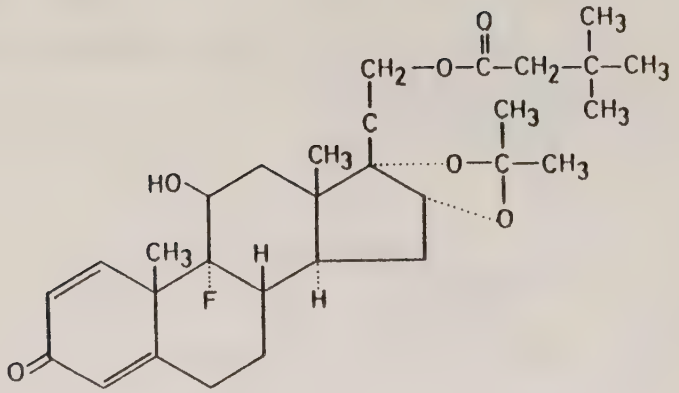
Fa. Merck, Sharp & Dohme, München



Indometacin

Lederlon^{R},
(Triamcinolonhexaacetonid)

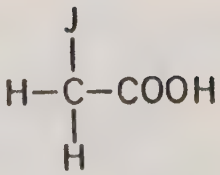
handelsübliche Ampulen der
Fa. Cyanamid, Wolfratshausen



Triamcinolonhexacetonid

Monojodessigsäure,

Natrium-Salz, Fa. Serva,
Heidelberg



Monojodessigsäure

^{14}C-Monojodessigsäure
Jodo (1-^{14}C) Acetic acid
spezifische Aktivität
5-15 mCi/mmol

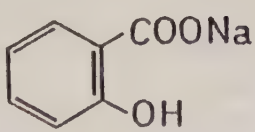
NEN Chemicals GmbH,Dreieich

^{3}H-Monojodessigsäure
Jodo (2-^{3}H) Acetic acid
spezifische Aktivität
61 mCi/mmol

Amersham Buchler, Braunschweig

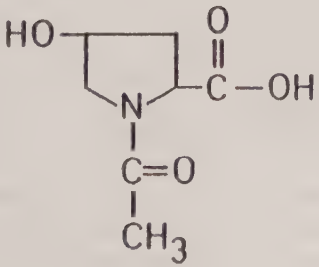
Natrium-Salicylat
Na-Salicylat

DAB 7



Oxaceprol
(N-Acetyl-4-Hydroxyprolin)

Fa. Chephasar, St. Ingbert



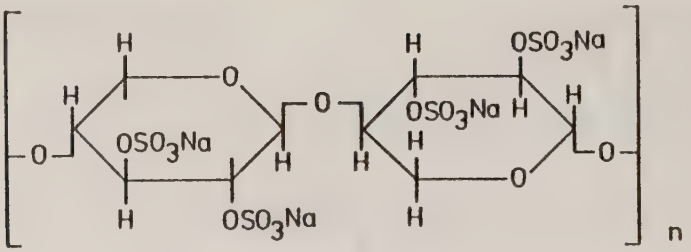
Peroxinorm,
(Orgotein)

handelsübliche Trockensubstanz,
Fa. Grünenthal, Stolberg

Kupfer- und Zink-enthaltendes Enzym mit Superoxid-Dismutase-Aktivität, das aus Rinderleber und Rindererythrozyten gewonnen wird.

Sp 54^{R}
(Pentosanpolysulfat)

handelsübliche Ampulen,
Fa. Bene Chemie, München



2.1.2.2. Reagenzien und Chemikalien

2.1.2.2.1. Inkubation

Aqua dest.	
Calciumchlorid x2 H_2O p.a.	Fa. E. Merck, Darmstadt
D+Glucose (Monohydrat)	Fa. E. Merck, Darmstadt
Kaliumdihydrogenphosphat	Fa. E. Merck, Darmstadt
Magnesiumsulfat x7 H_2O p.a.	Fa. E. Merck, Darmstadt
Natriumchlorid p.a.	Fa. E. Merck, Darmstadt
Natriumhydrogencarbonat p.a.	Fa. E. Merck, Darmstadt
Penicillin G	Hoechst AG, Frankfurt
Streptothenat 1 g Inj.Fl.	Fa. Grünenthal, Stolberg

2.1.2.2.2. Histologie und Mikroskopie

Aqua dest.	
Corbit-Balsam	Fa. Hecht, Kiel-Hassee
Dinatriumhydrogenphosphat	Fa. E. Merck, Darmstadt
Eiweiß-Glycerin-Lösung	Fa. Chroma-Gesellschaft, Stuttgart
Essigsäure 96 % p.a.	Fa. E. Merck, Darmstadt
Formaldehyd, säurefrei für die Histologie	Fa. E. Merck, Darmstadt
Glutardialdehydlösung 25 %	Fa. E. Merck, Darmstadt
Immersionsöl für die Mikroskopie	Fa. E. Merck, Darmstadt
Mayers Hämalaun für die Mikroskopie	Fa. E. Merck, Darmstadt
Natriumdihydrogenphosphat x H_2O	Fa. E. Merck, Darmstadt
Natriumhydroxid p.a.	Fa. E. Merck, Darmstadt
Paraplast plus	Fa. Sherwood Medical, St. Louis, USA
Propan-2-ol	Fa. E. Merck, Darmstadt
Salzsäure 32 % p.a.	Fa. E. Merck, Darmstadt
Titriplex III p.a.	Fa. E. Merck, Darmstadt
Trichloressigsäure	Fa. E. Merck, Darmstadt
Xylol, reinst	Fa. E. Merck, Darmstadt

2.1.2.2.3. Autoradiographie

Aqua dest.	
Gelatine, gepulvert	Fa. E. Merck, Darmstadt
Glycerin 87 % p.a.	Fa. E. Merck, Darmstadt
^{3}H-Glucosamin-HCl, D- 6-^{3}H(N), spezifische Aktivität 20,2 Ci/mmol	NEN Chemicals GmbH, Dreieich
^{3}H-Prolin 3,4-^{3}H(N) spezifische Aktivität 40,8 Ci/mmol	NEN Chemicals GmbH, Dreieich
Kaliumchrom III-Sulfat	Fa. E. Merck, Darmstadt
Kaliumdichromat, reinst	Fa. E. Merck, Darmstadt
Kodak D-19 Developer	Fa. Kodak AG, Stuttgart
Kodak Unifix Fixiersalz	Fa. Kodak AG, Stuttgart
^{35}S-Sulfat, Na-Salz, trägerfrei spezifische Aktivität 667,0 µCi/mmol	NEN Chemicals GmbH, Dreieich
Schwefelsäure, konz. 95-97 % p.a.	Fa. E. Merck, Darmstadt
Wissenschaftliche Emulsion in Gel-Form L4	Ilford GmbH, Dietzenbach-Steinberg

2.1.2.3. Geräte

2.1.2.3.1. Applikationsmaterial

Hona Gleitschliff Kanülen, Nr. 18 Mittellang, 18.8	
Tuberkulinspritzen, 0,5 ml/100T	Fa. HSW, Henke, Sass und Wolf, Tuttlingen

2.1.2.3.2. Präparationsmaterial

Arterienklemmen

Pinzetten (anat. und chir.)

Präpariernadeln

Scheren, diverse

Skalpell

2.1.2.3.3. Inkubation

Enzymtest-Pipetten 0,1 ml : 1/1.000	
0,2 ml : 1/ 500	
0,5 ml : 1/ 100	
Eppendorf-Pipetten 100 µl	
200 µl	
300 µl	
Reagenzgläser NS 14 mit Schliffstopfen, 10 ml	
Warburg Apparat V 85, Schüttelfrequenz 80-160/min. Amplitude 1,25-5cm Temperaturkonstanz ± 0,01 °C	Fa. Braun Apparatebau, Melsungen
Wasserbad mit Thermostat	Fa. Haake
Zentrifugiergläser 100 ml	
Zentrifugiergläser 100 ml mit Schraubverschluß	

2.1.2.3.4. Histologie und Mikroskopie

Bleiblöcke 3,0 x 2,0 x 2,5 cm	
Deckgläser, 55 mm x 26 mm, Nr. 1	
Färbeküvetten, 11	
Färbetrog, Glas, mit Färbeeinsatz	
Färbetröge, Plastibrand-Vitri, schwarz, mit Deckel	
Heiztisch, Medax	Fa. Nagel, Kiel
Magnetrührer, Ika Combimag RCH	
Mikrotom	Fa. E.Leitz, Wetzlar
Mikrotom-d-Messer	Fa. Jung, Heidelberg
Objektträger, 76 mm x 26 mm, mit Mattrand	
Trockenschrank	Fa. W.C.Heraeus, Hanau
Mikroskop, Standard 14	Fa. Zeiss, Oberkochen
Okularnetzmikrometer, D 19 mm, 1/100	Fa. Zeiss, Oberkochen
Objekt, Planapo 100 1,3 Oel 160/-	Fa. Zeiss, Oberkochen
Olympus OM-2 Kamera	Fa. Olympus, Japan
Adapter-L	Fa. Olympus, Japan
Okularadapter P	Fa. Olympus, Japan
Einstellscheibe 1-12	Fa. Olympus, Japan

2.1.2.3.5. Autoradiographie

Beehive Safelightlamp, 40 Watt	Fa. Kodak
Blechplatte, verzinkt, 25 mm x 50 mm	
Exsikkator	
Färbezylinder, oval	
Filter, Safelight No. 2, dunkelrot	Fa. Kodak
Hygrometer	Fa. Bosch, Freiburg
Kühlakkus	
Kühlschrank	Fa. Kirsch, Offenburg
Meßzylinder 25 ml	
Meßzylinder 50 ml	
Thermometer -20 °C/+200 °C	

2.2. METHODIK

2.2.1. THEORIE UND PRAXIS DER AUTORADIOGRAPHIE

2.2.1.1. Der Einsatz autoradiographischer Methoden

Radiographie ist die Sichtbarmachung des Verteilungsmusters von Strahlung, wie z.B. Röntgen- oder Gamma-Strahlen, mittels strahlungsempfindlichen Emulsionen oder Filmen.
Das Beobachtungsobjekt befindet sich zwischen Strahlungsquelle und registrierendem Medium, so daß aufgrund von Absorption und Ablenkung ein negatives Bild des Objektes entsteht.
Im Gegensatz dazu stellt bei der Autoradiographie das zu untersuchende Objekt (meist Schnitte von biologischem Material) selbst die Strahlenquelle dar. Das mit Hilfe einer Emulsion oder eines Filmes erzeugte Bild zeigt das Verteilungsmuster der Radioaktivität in dem Gewebe und die Modifikation dieses Musters durch die Struktur des biologischen Materials. Es ist offensichtlich, daß unter diesen Bedingungen ein positives Bild entsteht.

Aufgrund der oben skizzierten Unterschiede, ist es richtiger, statt Autoradiographie, die Bezeichnung Radioautographie zu verwenden (115). In der Literatur finden wir jedoch überwiegend den Ausdruck Autoradiographie.

Die moderne Autoradiographie basiert auf zwei grundlegenden Techniken:

1. Eintauchen von Gewebeschnitten in geschmolzene Fotoemulsion ("dipping").
2. Abziehen der erstarrten Emulsion von einer Glasplatte und Wiederaufbringen auf einen Objektträger ("stripping").

Mit Geigerzähler, Ionisationskammer und Szintillationszählern sind sehr genaue Messungen der Gesamtradioaktivität in biologischem Material möglich. Variationen innerhalb eines bestimmten Gewebes können in der Regel nicht entdeckt werden.

In dieser Situation ist die Autoradiographie die Methode der ersten Wahl.
Jeder einzelne Silberhalogenid-Kristall der Kernemulsion ist ein unabhängiger Detektor, isoliert von dem Rest der Emulsion durch eine Gelatinekapsel.
Jeder einzelne Kristall reagiert auf Strahlung mit der Bildung eines latenten Bildes, das durch die Entwicklung permanent sichtbar wird.
Die Registrierung der aus dem radioaktiven Material emittierten Strahlung ist kumulativ und räumlich exakt.
Die Autoradiographie ist allerding relativ zeitintensiv und methodisch schwieriger als die Impulszähltechniken.
Dem steht eine ganze Reihe von Vorteilen gegenüber.
Die Methode gibt Auskunft, ob eine radioaktive Strahlungsquelle intra- oder extrazellulär lokalisiert ist, ob sie z.B. in parenchymatischen Zellen oder anderen Zelltypen zu suchen ist, ob sie sich im Zellkern oder im Zytoplasma befindet usw.

Selbst unter der Bedingung einer kaum möglichen Mikrodissektion von einzelnen Zellen oder Zellstrukturen, wäre die vorhandene Menge an Radioaktivität zu gering, um sie mit einem Geigerzähler oder einer Szintillationskammer gegen die Background-Strahlung zu registrieren.
Mit der Autoradiographie können noch 10^{-18} Mol (47) radiomarkierter Substanz pro Zelle nachgewiesen und Zerfallsraten von weniger als eine Disintegration pro Tag exakt gemessen werden. Die meisten kommerziell verfügbaren Impuls-Counter haben Backgrounds von 10 - 20 Counts pro Minute (167).

2.2.1.2. Besonderheiten der quantitativen Autoradiographie

Um mit der quantitativen Autoradiographie reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, und um vergleichende Untersuchungen durchführen zu können, müssen eine Reihe von Einflußgrößen berücksichtigt werden, die im folgenden tabellarisch aufgelistet sind:

1. Verblassen des latenten Bildes (latent image fading) (5)
2. Background-Strahlungsquellen (27 ,115)
3. Positive und negative Chemographie
4. Expositionszeit und Expositionsbedingungen (63 ,137)
5. Entwicklungsbedingungen (27 ,162)
6. Dicke des histologischen Schnittes
7. Emulsionsschichtdicke, Gleichmäßigkeit und Reproduzierbarkeit (176)
8. Initialer Background der Photoemulsion
9. Histologische Färbung (pre-staining, post-staining) (163,191)
10. Reichweite der radioaktiven Strahlung in Photoemulsion (25 ,173)
11. Absorption der Strahlung im radioaktiven Gewebe (Selbstabsorption) (73,167,173)
12. Energiespektrum der Strahlung
13. Einfluß des histologischen Fixiermittels (7,115,157,197)
14. Histologische Entkalkungsmethode (49,50,74,92,169,180)
15. Auflösungsvermögen und Effektivität des Autoradiogrammes (8,25,73,167,171,172)
16. Radiochemische Reinheit des Präkursors (56)
17. Autoradiolyse von Isotopen, bakterielle Kontamination (11,55,56)

2.2.1.3. Histologische Technik und Autoradiographie

Bei der Auswertung eines Autoradiogrammes wird versucht, eine biochemische Beobachtung mit der Mikrostruktur des Gewebes zu korrelieren. Spezifität der Markierung und Bewahrung der Gewebestruktur sind deshalb essentiell. Die Autoradiographie stellt höhere Ansprüche sowohl an die Qualität des zu untersuchenden Gewebeschnittes als auch an die Methodik. Arbeitsweisen der Routine-Histologie können nicht ohne weiteres übernommen werden.

Variationen der Schnittdicke und Gewebeschrumpfung während der Aufarbeitung sind oft die Ursachen von enormen Differenzen in der Kornzahl pro Flächeneinheit.
Reagenzien und Lösungsmittel müssen einen hohen Reinheitsgrad aufweisen. Es ist unbedingt darauf zu achten, daß Gerätschaften und Gewebeschnitte geschützt vor Staub und Chemikalien aufbewahrt werden. Sämtliche erforderlichen Lösungen sind stets frisch zu bereiten (alte und verunreinigte Lösungen können Chemographie bewirken)!

Die Reinigung der Färbe-, Entwicklungs- und "dipping"-Gefäße führten wir nach folgendem Schema durch:

1. 15 Minuten fließendes, heißes Wasser
2. 8 Stunden 1N-NaOH
3. 15 Minuten fließendes, heißes Wasser
4. 1 Stunde Chrom-Schwefelsäure
   ($K_2Cr_2O_7$, 100g; H_2SO_4, 100 ml; Aqua dest., 850 ml)
5. 12 Stunden fließendes, kaltes Wasser
6. 2 mal 30 Minuten spülen mit Aqua dest.

Die Säuberung der Objektträger in einem der üblichen Äthanol-Äther-Gemische der Histologie ist unzulänglich und kann lediglich für die Deckgläser zur Anwendung kommen.

Reinigung der Objektträger:

1. 12 Stunden Chrom-Schwefelsäure
2. 12 Stunden spülen in fließendem Wasser
3. 2 mal 30 Minuten spülen in Aqua dest.

Die so vorbehandelten Objektträger werden anschließend kurz bei Raumtemperatur in eine Gelatine-Chromalaun-Lösung getaucht, in staubfreier Atmosphäre getrocknet und bis zur Verwendung in dicht schließenden Kästen aufbewahrt.

Rezeptur der "Subbing"-Lösung:

Chromalaun	0,5
Gelatine	5,0
Aqua dest. ad	1.000,0

Die Lösung wird vor Gebrauch filtriert (!) und ist im Kühlschrank maximal 2 Tage haltbar.

Der Sinn einer histologischen Gewebefixierung besteht in der Stabilisierung von Zellkomponenten und Zellstrukturen in einem Ausmaß, daß Materialverluste und Um- bzw. Abbauvorgänge nicht mehr stattfinden.Bei Präkursor-Inkorporations-Studien erwartet man von einem Autoradiogramm, daß es zeigt, ob und an welcher Stelle eine radioaktive Substanz in größere Moleküle eingebaut wurde. Der Fixierlösung und in geringem Umfang der gesamten nachfolgenden weiteren histologischen Aufarbeitung des Gewebes kommt somit zusätzlich die Aufgabe einer selektiven Extraktion des nichtinkorporierten Präkursors zu. Die Wahl eines adaequaten Fixiermittels ist daher für autoradiographische Untersuchungen von großem Interesse (7, 167).
Bei der Wahl des Fixiermittels für die Autoradiographie muß zusätzlich auf mögliche Interaktionen mit der Emulsion geachtet werden. Fixative, wie z.B. Zenkers, die Quecksilber oder Zink enthalten, bewirken positive Chemographie (115,167).

2.2.1.4. Beschreibung der autoradiographischen Technik

Zur Entwicklung einer autoradiographischen Technik führten wir unter Berücksichtigung der unter 2.2.1.2. genannten Punkte umfangreiche Vorversuchsreihen durch, indem wir unter standardisierten Bedingungen und mit geeignetem Probenmaterial die nachstehend genannten Einflußgrößen variierten:

1. Histologisches Fixativ (Formalin, Glutardialdehyd, Propan-2-ol)
2. Expositionszeit (7 bis 28 Tage)
3. Radioaktive Konzentration (0,5 bis 5 µCi/ml)
4. Entwicklungszeit in Kodak D 19 Developer (0,5 bis 20 Minuten)
5. Trocknungsbedingungen frisch hergestellter Emulsionsschichten (eisgekühlte Blechplatte, O °C; Raumtemperatur; Heiztisch, 40 °C; Trockenschrank, 40 °C)
6. Expositionsbedingungen (- 20 °C, + 4 °C, + 20 °C, jeweils mit und ohne Blaugel als Trockenmittel)

Die Prüfung auf Gleichmäßigkeit und Reproduzierbarkeit der erzeugten Emulsionsschicht unter "dipping"-Bedingungen wurde über Silberkorndichtevergleich in 1, 2 und 3 cm Abständen vom Mattrand des Objektträgers vorgenommen.
Die Resultate sind in Teil 3 dieser Arbeit detailliert wiedergegeben.
Aus den Ergebnissen unserer Vorversuche leiteten wir ein histoautoradiographisches Standardverfahren ab, das im folgenden beschrieben wird.

I. Entparaffinierung

Die bei nominal 5 µm hergestellten Paraffinschnitte werden in vertikaler Position im Trockenschrank auf 60 °C erwärmt und für eine Stunde bei dieser Temperatur belassen. Während dieser Zeit tropft der größte Teil des Paraffins aus dem Schnitt und wird von einer Lage Zellstoff aufgefangen. Die vollständige Entparaffinierung erfolgt anschließend in einer absteigenden Xylol-Alkoholreihe:

Xylol	3 x 10 Minuten
Isopropanol 100 %	3 x 2 Minuten
Isopropanol 96 %	3 x 2 Minuten
Isopropanol 75 %	2 x 2 Minuten
Isopropanol 50 %	2 x 2 Minuten
Aqua dest.	2 x 2 Minuten

Die entparaffinierten Gewebeschnitte werden vor Staub geschützt bei Raumtemperatur getrocknet.

II. Autoradiogrammherstellung nach der "dipping"-Technik

Emulsion: Ilford L4, wissenschaftliche Emulsion in Gelform
Safelight: Kodak Beehive Safelightlamp, 25 Watt Birne,
Kodak Safelightfilter Nr. 2, dunkelrot
Dunkelraumbedingungen: Temperatur 20 °C, relative Luftfeuchtigkeit
50 bis 60 %

In einen ovalen Färbezylinder als "dipping"-Gefäß werden 11,76 ml Aqua dest. und 0,24 ml Glycerin pipettiert und dieser zuammen mit einem 25 ml und einem 50 ml Meßzylinder in ein Wasserbad von 43 °C überführt. Unter Safelight-Beleuchtung erfolgtmittels einer Plastikgabel der Transfer der Emulsion in Gelform in den 50 ml Meßzylinder, bis die 25 ml-Marke erreicht ist. Unter vorsichtigem Rühren mit einem Glasstab schmilzt die Emulsion während 10 Minuten im Wasserbad.

12 ml der geschmolzenen Emulsion werden im 25 ml-Meßzylinder abgemessen und in das "dipping"-Gefäß gegossen. Langsames Rühren mit einem Glasstab während einer Minute unterstützt die vollständige Durchmischung von Emulsion und Glycerin-Wasser-Lösung. Zur Prüfung auf Luftblasenfreiheit wird ein vorgereinigter Objektträger kurz in die verdünnte Emulsion getaucht und anschließend im Safelight betrachtet. Sind Luftblasen vorhanden, so erfolgt nach weiteren fünf Minuten eine erneute Prüfung bis das Resultat zufriedenstellend ist. Die Objektträger mit den entparaffinierten Knorpelschichten werden einzeln für fünf Sekunden in die Emulsion getaucht, mit einer langsamen, gleichmäßigen Bewegung herausgezogen und fünf Sekunden lang in vertikaler Position - Mattrand nach oben - auf ein Papiertuch gestellt.
Nachdem die Rückseite des jeweiligen Objektträgers mit Hilfe eines Kleenextuches von überschüssiger Emulsion befreit worden ist, wird das Autoradiogramm mit der Emuslionsschicht nach oben auf eine eisgekühlte (Kühlakkus) Blechplatte gelegt.
Sind alle Präparate mit Emulsion überzogen, verbleiben sie, in völliger Dunkelheit, eine Stunde lang auf der Metallplatte. Anschließend werden die Objektträger in Färbegestelle einsortiert und 24 Stunden bei 20 °C im Exsikkator über Blaugel getrocknet. Die Exposition findet über Blaugel in schwarzen, lichtdichten Plastikboxen bei 4 °C während 14 Tagen, statt.

III. Photographische Entwicklung

Zwei Stunden vor Entwicklungsbeginn werden die Autoradiogramme zum Temperaturausgleich aus dem Kühlschrank genommen.
Die Entwicklung erfolgt nach folgendem Schema:

Kodak D-19 Entwicklerlösung	6 Minuten
Essigsäure 1 % (Stoppbad)	1 Minute
Kodak Unifix Fixierlösung	6 Minuten
Leitungswasser, fließend	15 Minuten

Auf ein Schütteln des Entwicklerbades wird verzichtet.

Die noch feuchten Autoradiogramme können anschließend histologisch gefärbt, entwässert und mit Corbit eingedeckt werden:

Aqua dest.	2 x 2 Minuten
Mayer's Hämalaun, filtriert	10 Minuten
Differenzierung in HCl 1 %	1 Minute
"Bläuen" in fließendem Wasser	10 Minuten
Aqua dest.	2 Minuten
Isopronanol 50 %	2 x 2 Minuten
Isopropanol 75 %	3 x 2 Minuten
Isopropanol 96 %	3 x 2 Minuten
Isopropanol 100 %	3 x 10 Minuten

IV. Kontrollen

Silberkörner können in der Kernemulsion auch durch positive Chemographie, Hitze, Licht oder Druck erzeugt werden. Zur Kontrolle gegen solche "falsch-positive" Ergebnisse wird in jeder Versuchsgruppe ein Objektträger mit drei nicht-radioaktiven Gewebeschnitten autoradiographiert. Da andererseits auch Verluste von Silberkörnern über markierten Arealen (negative Chemographie) möglich sind, fügen wir jeder Untersuchungsreihe ein licht-exponiertes Autoradiogramm bei. Diese zusätzlichen Kontrollobjektträger werden unter die Schnitte der Versuchsgruppe gemischt, so daß Exposition und Entwicklung unter identischen Bedingungen ablaufen.

Durch eine einfache und schnell durchführbare Untersuchung stellen wir sicher, daß die Emulsionsschicht eine, für die Autoradiographie mit Tritium, ausreichende Dicke aufweist:
Ist die Emulsionsschicht dicker als die maximale Reichweite der β-Partikel, dann können mehrere Fokus-Ebenen mit dem Mikroskop durchfahren werden, in denen nur einige wenige Silberkörner liegen, bis man zu Arealen mit einer hohen Korndichte gelangt, die ca. 2 µm oberhalb der Zelle beginnen.

2.2.1.5. Mikroskopie, Datensammlung und Auswertung der Autoradiogramme

2.2.1.5.1. Mikroskopie

Für den Vergleich der Chondrozytenfunktion in verschiedenen Knorpelproben mittels Autoradiographie, ist die Inkorporation der radioaktiven Substanzen auf Gewebeparameter zu beziehen. Gewicht, DNA- oder Uronsäuregehalt sind für mikroskopische Untersuchungen ungeeignete Bezugsgrößen. Die Verteilung radioaktiv markierter Moleküle in histologischen Schnitten läßt sich aber in Relation zur Fläche der diversen Gewebekompartimente darstellen.
Da die Proteoglykansynthese sowohl innerhalb desselben Gelenkes (gewichtbelastete und nicht gewichtbelastete Gebiete (178)) als auch mit zunehmendem Abstand von der Gelenkoberfläche beträchtlichen Variationen unterworfen ist (91), muß die Knorpeldicke des zu untersuchenden Areals streng kontrolliert und die Lokalisation des Schnittes im Gelenk genau definiert werden.
Bei allen unseren Untersuchungen lag die Schnittebene in Belastungsrichtung senkrecht zur Oberfläche des tibiofemuralen Gelenkknorpels (Abb. 14).

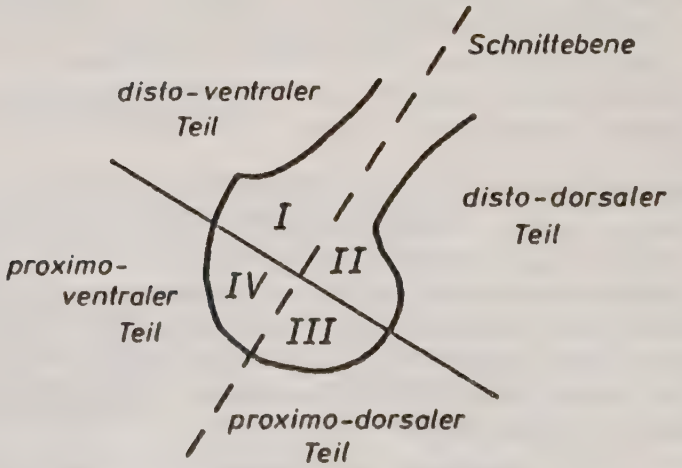


Abbildung 14:
Schematische Darstellung des linken Femurkondylus im Kniegelenk vom Huhn aus lateraler Sicht sowie seine Unterteilung in vier Quadranten (Quadrantenschema nach KALBHEN und SCHILLER (106). Festlegung der Schnittebene als Senkrechte zum tibio-femuralen Gelenkknorpel.

Wie die Abb. 15 zeigt, stammten die Schnitte aus dem Gelenkbereich, der durch die Insertionspunkte des vorderen und hinteren Kreuzbandes, begrenzt wurde.

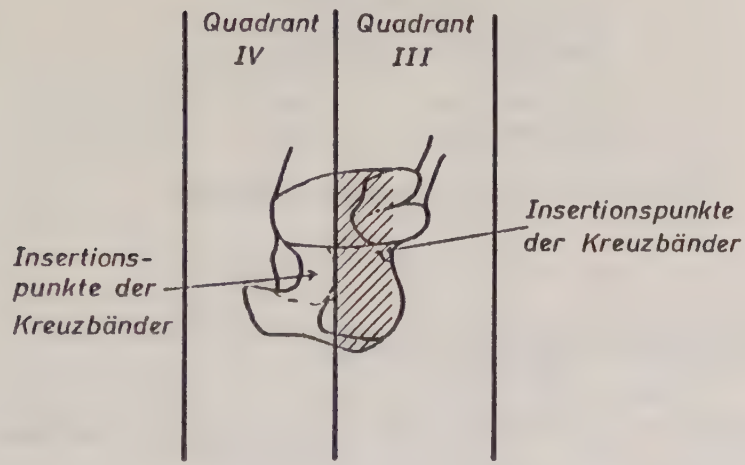


Abbildung 15:
Schematische Reliefzeichnung des proximo-dorsalen (Quadrant III) und proximo-ventralen (Quadrant IV) Teils des linken Femurkondylus im Kniegelenk vom Huhn in Flächenansicht. Der ausgewertete Gelenkbereich (Schraffierung) wird von den Insertionspunkten der Kreuzbänder begrenzt.

Das Knorpelprofil entspricht im Quadrantenschema nach KALBHEN und SCHILLER (106) somit dem des Quadranten III (Abb. 16).

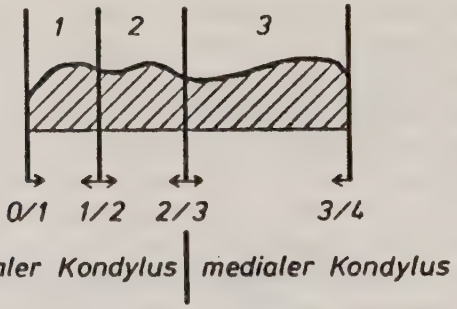


Abbildung 16:
Unterteilung des tibio-femuralen Knorpelprofils des Quadranten III im Kniegelenk vom Huhn in die Abschnitte 1-3.

Die mikroskopische Auswertung erfolgte ausschließlich am medialen Kondylus.

Die 400 bis 650 µm dicke Knorpelschicht weist histologisch, wie in Abb. 17 dargestellt, eine charakteristische Schichtung auf (38). In der äußeren Gleit- oder Tangentialschicht sind die Knorpelzellen von spindelförmiger Gestalt und mit ihrem größten Durchmesser parallel zur Gelenkoberfläche angeordnet. In der Intermediärschicht liegt der biosynthetisch aktive Chondrozyt. Er imponiert, einzeln, zu zweien oder als Dreiergruppe in der umgebenden Matrix gelegen, durch einen rundlichen bis ovalen Zytoplasmaleib, in dem sich exzentrisch der Zellkern befinet. Nach ANNEFELD (4) wird der Zellkern im elektronenmikroskopischen Bild von parallel angeordneten Mikrofilamentbündeln umgeben, die sich unmittelbar der Kernmembran anlagern und als kontraktile Proteine die strukturelle Integration der Zelle wahren. Als weitere Zeichen funktioneller Aktivität dominieren dichtgelagerte freie Ribosomen, sehr viel rauhes endoplasmatisches Retikulum und ein auffällig prominenter paranukleärer Golgi-Apparat aus lamellären und vesikulären Anteilen.

In der Radiär- oder Basalschicht hypertrophieren die Chondrozyten und bilden durch Zusammenlagerung sogenannte Chondrone oder Zellcluster aus meist vier Chondrozyten. Zum subchondralen Knochen hin nehmen die degenerativen Veränderungen in den Zellen zu bis zur bereits lichtmikroskopisch erkennbaren blasigen Degeneration.

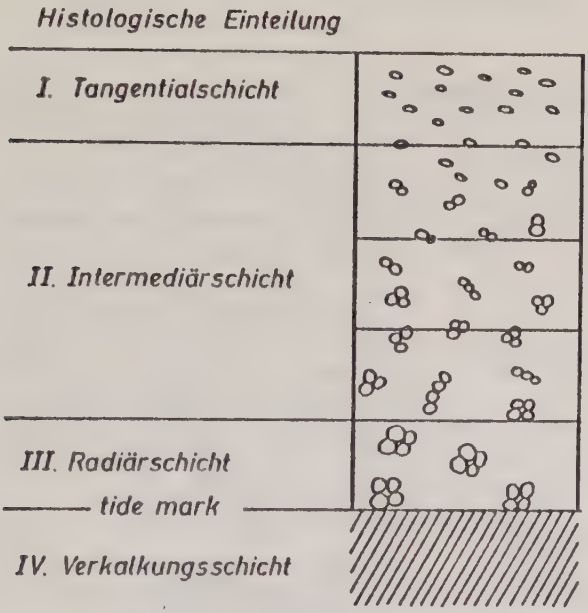


Abbildung 17:
Schematische Darstellung der histologischen Unterteilung des hyalinen Gelenkknorpels in unterschiedliche Zonen.

Für die Abgrenzung des Meßbereiches bedienten wir uns eines Zeiss Okularnetzmikrometers, dessen quadratisches Raster in 100 gleich große Quadrate unterteilt ist. In dem verwendeten mikroskopischen System (Zeiss Standard 14 Mikroskop, Planapo x 100 Ölimmersion-Objektiv, NA 1,3) entspricht das gesamte Rasterareal einer Fläche von 61,2 µm x 61,2 µm = 3.745 µm².

Bei der Silberkornzählung folgten wir dem histologischen Aufbau des Knorpels und teilten den Meßbereich, der sich von der Knorpeloberfläche bis zur tide mark erstreckte, mit Hilfe des Netzmikrometers in fünf aufeinanderfolgende quadratische Meßzonen der Seitenlänge 61,2 µm ein. Meßzone Z I entspricht der Tangentialschicht, die Zonen Z IIa, b und c entsprechen der Intermediärschicht und Zone Z III entspricht der Radiärschicht. (Abb. 18).

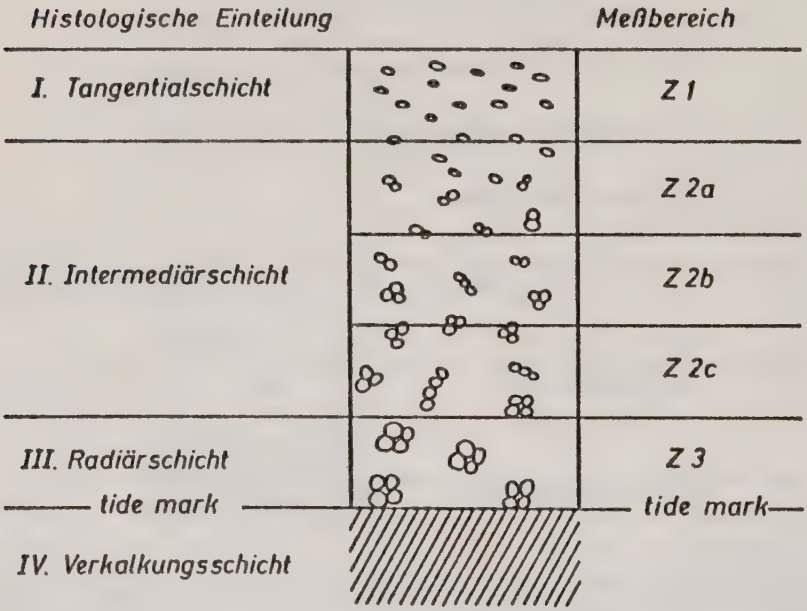


Abbildung 18:
Unterteilung des quantitativ ausgewerteten Knorpelareals im medialen Femurkondylus (Teilabschnitt 3) in 5 Meßbereiche sowie ihre Zuordnung zu der histologischen Einteilung.

Die Ermittlung der Zellflächen erfolgte wenn möglich, wie bei Chondrozyt N in Abb. 19, direkt mit dem Netzmikrometer (1 Teilquadrat = 6,12 µm x 6,12 µm = 37,45 µm²), oder durch Bestimmung der Zelldurchmesser mit einem Okularmikrometer (Zelle M in Abb. 19). Die Chondrozytenfläche kann anschließend über die Ellipsenformel (a x b x π) erreichnet werden (44).

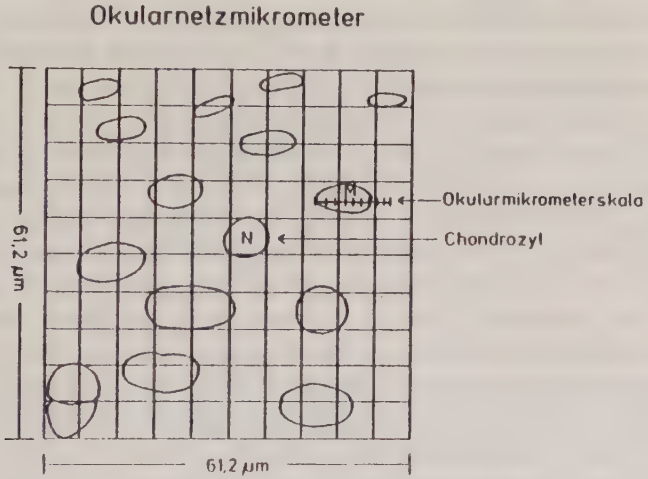


Abbildung 19:
Zellflächen- und Zelldurchmesserermittlung im mikroskopischen Bild.

2.2.1.5.2. Datensammlung

Die Reichweite eines β-Partikels mit der Initialenergie von 18,6 keV beträgt ca. 2 bis 3 µm in Ilford Emulsion. Sollen Silberkorndichten über Zellen mit Silberkorndichten über dem Interstitium verglichen werden, so stellt sich das Problem: Welche Körner außerhalb der Zellgrenzen gehören noch zur Zelle und welche nicht. Ein radioaktiv markiertes Molekül, daß unmittelbar mit der Zellwand in Verbindung steht oder z.B. 0,1 µm von der Zellwand entfernt im Zytoplasma eingebaut wird, kann Silberkörner im Abstand von ca. 2 bis 3 µm von der ursprünglichen Zelle erzeugen. Zählt man nur die Silberkörner, die im mikroskopischen Bild direkt über der erkennbaren Zellstruktur liegen, so können enorme Zählfehler auftreten. Erschwert wird die Zählung auch durch die Tatsache, daß β-Spuren meist ein irreguläres Erscheinungsbild liefern und nicht ohne weiteres auf ihren Ursprungsort zurück extrapoliert werden können. Die Spurlänge in einer Photoemulsion ist nicht identisch mit der maximalen Reichweite oder Eindringtiefe des β-Teilchens. Die Reichweite wird definiert als der Radius R des Kreises um den Ursprungsort des β-Teilchens, der alle Körner der dazugehörigen Spur der Länge L einschließt.
Nach LEVI und Mitarbeitern (124) besteht zwischen der Spurlänge L und dem Spurradius R in Ilford G 5 Emulsion folgender Zusammenhang: $\log R = 0{,}816 \log L - 0{,}042$. R kann demnach niemals größer als L sein. Die größte von uns gemessene Spurlänge war 2,7 µm. Unter der Annahme, daß obige Beziehung auf die Verhältnisse in L 4 Emulsion annähernd übertragbar ist, können wir den Radius des Kreises berechnen, der 100 % aller Silberkörner enthält, die von einem radiaktiven Molekül - in der Zellwand einer beliebigen Zelle - in der mikroskopischen Ebene erzeugt werden:

$$\log R = 0{,}816 \cdot \log 2{,}7 - 0{,}042$$
$$R = 2{,}04\ \mu m$$

Für die Richtigkeit dieser Berechnung steht die gute Übereinstimmung mit dem Auflösungsvermögen von Tritiumautoradiogrammen (0,3 bis 0,4 µm Demnach liegen 50 % aller Silberkörner in einem Kreis mit dem Radius HR = 0,4 µm um die radioaktive Quelle. Innerhalb eines Kreises mit dem Radius 5 HR = 2 µm wären somit ca. 100 % aller erzeugten Silberkörner gelegen.

Um reproduzierbare Werte zu erhalten, sahen wir deshalb alle Silberkörner, die innerhalb der 5 HR-Sphäre von der Chondrozytenmembran entfernt in der Matrix lagen, als noch zur Zelle gehörig an (Abb. 20).

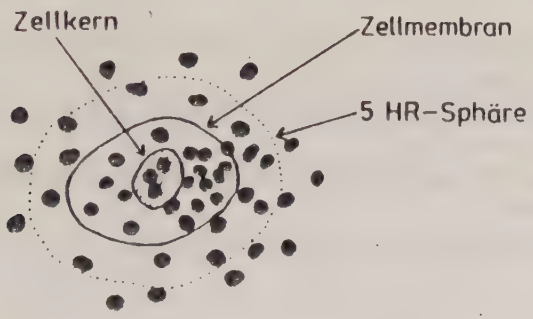


Abbildung 20:
Schematische Darstellung der 5 HR-Sphäre um einen radioaktiv markierten Chondrozyten. Die innerhalb der gestrichelten Linie gelegenen Silberkörner (große schwarze Punkte) werden noch als zur Zelle gehörig angesehen. (Erläuterung der 5 HR-Sphäre im Text)

Die Inkorporation von markierten Stubstanzen in synthetisch aktive Zellen kann durch autoradiographische Untersuchungen festgestellt und über die Silberkornzählung mit nachfolgender statistischer Analyse quantifiziert werden (52, 53,179,192).
Die Wahl eines geeigneten statistischen Testes erfordert die Kenntnis der entsprechenden Verteilungsfunktion (32).
In einer Vorversuchsreihe identifizierten wir die Verteilungsfunktion, die die Silberkornzählung am besten beschreibt (44), Dazu inkubierten wir die linken Femurkondylen von fünf gesunden Hühnern während drei Stunden in 10,0 ml Krebs-Ringer-Bicarbonat-Lösung mit 2,5 µCi/ml ^{3}H-Glucosamin. Die fünf rechten Kondylen wurden ohne Isotopzusatz unter sonst identischen Bedingungen inkubiert. Nach dem Einbetten in Paraplast plus autoradiographierten wir je drei Schnitte von nominal 5 µm Dicke nach dem angegebenen Standardverfahren.

Parallel dazu wurden zehn vorgereinigte Objektträger in geschmolzene Ilford L4 Emulsion getaucht, die mit ^{3}H-Glucosamin auf eine radioaktive Konzentration von 2,5 µCi/ml eingestellt worden war. Nach 14-tätiger Exposition und Entwicklung in Kodak D-19 erfolgte die mikroskopische Bestimmung der Silberkorndichte nach folgendem Schema:

a) Silberkorndichte über nicht radioaktiven Chondrozyten der Zonen Z I bis Z III
b) Silberkorndichte über radioaktiven Chondrozyten der Zonen Z I bis Z III
c) Background-Silberkorndichte über schnittfreien Zonen der Objektträger
d) Silberkorndichte über einheitlich markierter Photoemulsion

Tabelle 3: Theoretische Verteilungsfunktion der Silberkörner über radioaktiven und nicht radioaktiven Chondrozyten

Knorpelbereich	Körner über nicht radioaktiven Zellen $\bar{x} \pm s$	Varianz s^2	$\frac{s^2}{\bar{x}}$	theoretische Verteilung	Körner über radioaktiven Zellen $\bar{x} \pm s$	Varianz s^2	$\frac{s^2}{\bar{x}}$	theoretische Verteilung
Z I	0.96±1.260	1.588	1.654	Neg.Bin.	6.67±4.172	17.406	2.609	Neg.Bin.
Z II a	1.80±1.316	1.732	0.962	Poisson	10.19±4.847	23.493	2.305	Neg.Bin.
Z II b	1.31±0.855	0.731	0.558	Binom.	13.35±5.396	29.117	2.18	Neg.Bin.
Z II c	1.20±1.476	2.178	1.815	Neg.Bin.	17.00±4.309	18.567	1.092	Poisson
Z III	0.82±0.603	0.364	0.443	Neg.Bin.	8.75±2.605	6.786	0.775	Binom.

Tabelle 4: Anpassungsgüte des Verteilungsmusters von Background-Körnern und Körnern über gleichmäßig markierter Ilford L4 Emulsion an eine Poisson-Verteilung

Auswertungs-modus	$\bar{x} \pm s$ pro 37,45 µm²	Varianz s^2	$\frac{s^2}{\bar{x}}$	Theoret. Verteilg.	Erwartungs-wert nach Poisson
Background-Kornzählung	2.19±1.542	2.378	1.086	Poisson	1.98±1.339
Körner über radioaktiver Emulsion	8.25±2.746	7.540	0.914	Poisson	7.62±2.952

In den Abbildungen 21 und 22 ist die Übereinstimmung der Kornverteilung mit Poisson's Theorie zur Verdeutlichung noch einmal graphisch dargestellt.

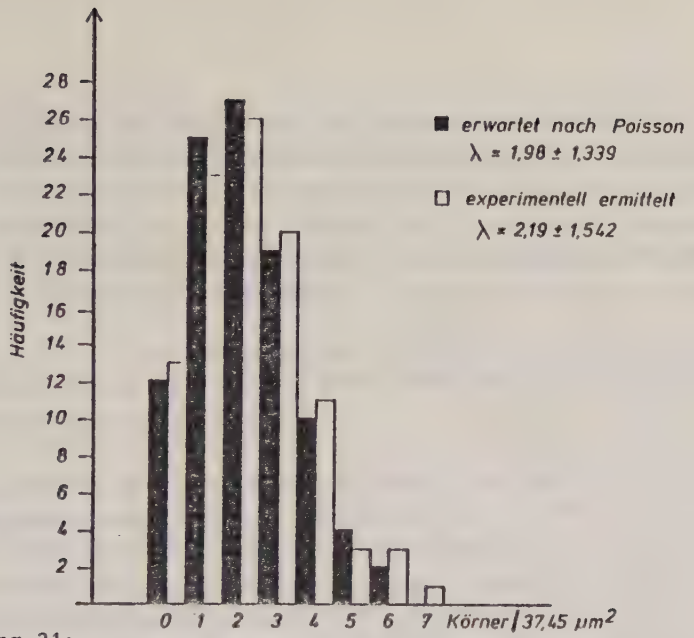


Abbildung 21:
Häufigkeitshistogramm von experimentell ermittelten (offene Säulen) Backgroundkörnern in Photoemulsion abseits des radioaktiven Gewebeschnittes zusammen mit den nach Poisson vorausgesagten Werten (schwarze Säulen).

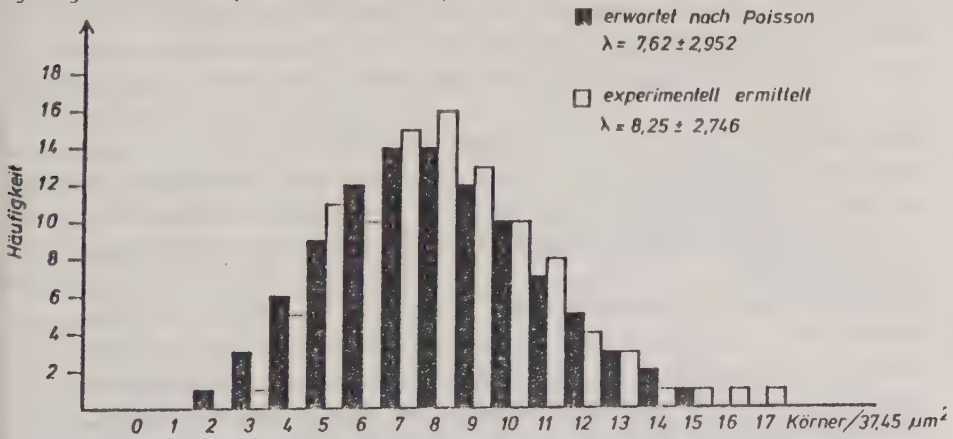


Abbildung 22:
Häufigkeitshistogramm von beobachteten Silberkornzahlen in radioaktiver Photoemulsion (offene Säulen) zusammen mit den nach Poisson vorausgesagten Werten (schwarze Säulen).

POISSON (158) leitete eine Formel ab, die die Wahrscheinlichkeit des Eintretens von seltenen Ereignissen innerhalb einer großen Population beschreibt. Mit Hilfe dieser Gleichung können die statistischen Variationen in der Zerfallsrate eines Radioisotopes genau vorhergesagt werden (107). Die Wahrscheinlichkeit, daß das Ereignis in der Beobachtungszeit t x-mal eintrifft, ist:

$$P_x = \frac{e^{-\lambda} \lambda^x}{x!}$$

e = Basis des natürlichen Logarithmus

λ = Erwartungswert von x_t

Die Poisson-Verteilung wird durch den Parameter λ vollständig charakterisiert. Sie ist eine diskrete, unsymmetrische Verteilung, deren Einzelwahrscheinlichkeiten mit wachsendem x, wenn $\lambda < 1$, monoton abnehmen und wenn $\lambda > 1$, zunächst zu - und dann abnehmen. Weil hier Mittelwert und Varianz gleich groß sind, gilt: Wenn bei diskreten Verteilungen das Verhältnis Varianz zu Mittelwert fast eins beträgt (etwa zwischen 10/9 und 9/10), können sie durch die Poisson-Verteilung approximiert werden, sofern die Veränderliche x große (theoretisch unendlich große) Werte annehmen könnte (44). Wenn $s^2 < \bar{x}$ könnte die Stichprobe einer Binominalverteilung, wenn $s^2 > \bar{x}$, einer Binominalverteilung mit negativem Index entstammen.

Eine generalisierte Form der Poisson-Verteilung stellt die negativ Binominalverteilung dar. Die Kurve ist ebenfalls rechtsschief aber im Gegensatz zu Poisson bleibt die Wahrscheinlichkeit eines Ereignisses nicht konstant. Die Varianz überschreitet daher immer den Mittelwert.
Strebt die Populationsgröße gegen ünendlich, so nähern sich die Poisson-Kurve und die beiden Binominalverteilungen der normalen Gauß'chen Glockenkurve an. Der Poisson-Charakter des radioaktiven Zerfalls verleitet dazu, anzunehmen, daß auch die Silberkörner eines Autoradiogrammes eine solche Verteilung zeigen müßten. Zur Diskussion der deutlich zu beobachtenden Abweichungen von Poisson's Gesetz müssen Student's allgemeine Konditionen für die Gültigkeit der Poisson-Theorie auf die Autoradiographie übertragen werden (1919 zitiert bei 32).

Danach gilt:

a) Die Chance, daß ein individuelles β-Elektron ein Silberkorn über einer Zelle erzeugt ist für alle β-Partikel gleich.

b) Die Chance, daß ein individuelles β-Teilchen ein Silberkorn über ihnen erzeugt, ist für alle Chondrozyten gleich groß.

c) Die Chance eines individuellen β-Elektrons über einer Zelle ein Silberkorn zu erzeugen, beeinträchtigt nicht die Erfolgschancen weiterer β-Teilchen.

Bedingung a) trifft keinesfalls zu, da nicht alle β-Strahlen die gleiche Initialenergie besitzen.
Nach STUDENT führt diese Abweichung zu einer positiven Binominalverteilung. Es gibt viele Gründe aus denen Kondition b) für die autoradiographische Situation nicht gültig ist. Die synthetische Aktivität verschiedener Chondrozyten ist mit Sicherheit unterschiedlich und damit die Inkorporation des radioaktiven Präkursors. Auch die Dicke der Emulsion, welche zwischen den einzelnen Gewebeschnitten und innerhalb eines bestimmten Schnittes selbst variiert, trägt zur Chancenungleichheit bei. Die experimentell ermittelte Verteilungskurve wird unter diesen Umständen durch die negativbinominale Distribution approximiert. Bedingung c) kann in der autoradiographischen Praxis oftmals nicht verifiziert werden, da einige β-Strahlen mehr als ein Silberkorn erzeugen können und pro Zelle mehrere radioaktive Moleküle aufgenommen werden, die zur gleichen Zeit in den Disintegrationsprozeß einzutreten vermögen. Nach STUDENT resultiert in diesem Fall eine negativ Binominalverteilung

Die von vielen Autoren (6,22,24,53,167) beschriebene Poisson-Verteilung der autoradiographischen Silberkornzählung, kann von uns nicht generell bestätigt werden. Lediglich für den autoradiographischen Background und für einheitlich markierte Emulsionsschichten läßt sich die Kornverteilung mit der Poisson-Therorie beschreiben. In den meisten anderen Autoradiogrammen herrscht die negativ Binominaldistribution vor.

Unsere Ergebnisse stehen somit in guter Übereinstimmung mit den Beobachtungen von CARO und FORRO (26), CHERNIK und EVANS (32) und LAJTHA et al. (120).

Wird in einem Versuch z.B. die Anzahl der Silberkörner pro Zelle bestimmt, so werden sowohl Körner, die aufgrund des Zerfalls von inkorporierten Isotopen entstanden sind, als auch Background-Körner erfaßt. Innerhalb einer Zellgruppe mit der gegebenen Kornzahl x finden wir deshalb drei Subpopulationen:

a) Zellen, deren Schwärzung allein durch den markierten Präkursor hervorgerufen wird,

b) Zellen, die nur Background-Körner aufweisen und

c) Zellen, deren Silberkornzahl aus dem Isotopen-Zerfall und dem Background gleichermaßen resultiert.

Um die durchschnittliche Intensität der Markierung, dargestellt als Silberkörner pro Zelle gpc und den Anteil der tatsächlich markierten Zellen in Form des Markierungsindex LI, zu ermitteln, müssen Background-Korrekturen durchgeführt werden.
Bei der Background-Bestimmung sollten grundsätzlich chemographische Effekte berücksichtigt werden. So fanden SAWICKI und Mitarbeiter (179), Background-Werte in Emulsionsschichten über histologischem Material, die drei bis fünf mal höher waren als über dem Objektträgerglas abseits des Gewebes.
Es ist daher unerläßlich, bei jedem autoradiographischen Experiment, einige isotopenfreie Gewebeschnitte zusätzlich zu den Kontrollen aufzuarbeiten. Die vielgeübte Praxis, Zellen mit 1, 2, 3 oder 4 Silberkörnern über ihnen als"falsch-positive" aufgrund des Background-Effektes zu betrachten und vor der Analyse durch Subtraktion zu eliminieren, führt wegen des Poisson-Charakters, den zumindest die Background-Kornverteilung zeigt, zu Fehlinterpretationen.

LEVI (77) schlägt zur Lösung des Problems vor, nur jene Zellen als tatsächlich markiert zu betrachten, deren Kornzahl mit nur 1 % oder besser noch 0,1 % Wahrscheinlichkeit durch Background-Effekte zurückzuführen ist. SAWICKI et al. (179) geben Nomogramme für die rasche Ermittlung des prozentualen Anteils der Zellen mit 1, 2, 3 oder 4 Körnern an, die als "falsch-positiv"-markierte ausgeschlossen werden müssen.
STILLSTRÖM (192) berücksichtigt zwar die zufällige Verteilung des autoradiographischen Backgrounds, gibt aber keine Methode zur Optimierung des Zählaufwandes für den Anteil der tatsächlich markierten Zellen und die Ermittlung der mittleren Kornzahl pro Zelle an.

Visuelle Kornzählung auf mikroskopischer Ebene ist sehr zeitraubend und ermüdend. Die Anzahl der markierten Zellen und in einem höheren Maße, die Anzahl von Silberkörnern über bestimmten Gewebearealen, die man zu bestimmen vermag, wird relativ begrenzt sein. ENGLAND und MILLER (52) geben Formeln an, die für eine Optimierung des Zählaufwandes für die Bestimmung der Anzahl der markierten Zellen aus einer gegebenen Zellpopulation innerhalb eines histologischen Schnittes und der erforderlichen Mindestkornzahl bei einem gegebenen Verhältnis von autoradiographischer Reaktion und Background erforderlich sind.

Das Problem der Fehlinterpretation eines Autoradiogrammes entsteht nur, wenn man willkürlich 1, 2, 3 oder 4 Körner pro Zelle oder Areal als Mindestkornzahl für eine Markierung ansieht. Wird als Kriterium für eine Markierung ein Korn oder mehrere Körner angesehen, so wird die Background-Schwärzung zwar mit erfaßt, aber der Fehler kann durch eine relativ einfache Korrektur beseitigt werden, ohne irgendwelche Bedingungen an die Korndichteverteilung zu stellen. Darüber hinaus erhält man eine wesentlich bessere Abschätzung des tatsächlichen Anteils der markierten Zellen, da solche mit niedriger Aktivität nicht ignoriert werden, es sei denn, sie produzieren kein einziges Silberkorn.

In allen unseren Untersuchungen gilt eine Zelle deshalb als markiert, wenn ein Korn oder mehrere Körner in der darüber liegenden Emulsionsschicht beobachtet werden. Wir legen weiterhin fest, pro Gelenk fünf histologische Schnitte auszuwerten und die Background-Bestimmung an einem nicht radioaktiven Gewebeschnitt unter sonst identischen Bedingungen durchzuführen. Der Variationskoeffizient soll nicht größer als 5 % sein.
Die optimale Anzahl an auszuwertenden Zellen wird nach ENGLAND und MILLER (52) dann durch die Gleichungen:

$$N_{S+B} = \frac{1}{(CV)^2} \left(\frac{1- P_{S+B}}{P_{S+B}-P_B} \right)^2 \left(\frac{P_{S+B}}{1-P_{S+B}} + \sqrt{\frac{P_{S+B} \cdot P_B}{K\ (1-P_{S+B})\ (1-P_B)}} \right)$$

$$N_B = \frac{1}{(CV)^2} \left(\frac{1- P_{S+B}}{P_{S+B}-P_B} \right)^2 \left(\frac{P_B}{1- P_B} + \sqrt{\frac{K \cdot P_{S+B} \cdot P_B}{(1-P_{S+B})\ (1-P_B)}} \right)$$

angegeben. Dabei ist

N_{S+B} = Anzahl der Zellen, die sowohl Silberkörner aufgrund des inkorporierten Isotopes als auch Background-Körner enthalten.

N_B = Anzahl der markierten Zellen im Background-Schnitt

CV = Variationskoeffizient

P_{S+B} = Anteil der Zellen mit Isotop- und Background-Markierung

P_B = Anteil der markierten Zellen im Background-Schnitt

K = Anzahl der Schnitte

Eine grobe Schätzung von P_{S+B} und P_B - durch Auswertung von jeweils einer Fläche von 3.745 µm² erhalten - wird mit K = 5 und CV = 0,05 in die Gleichung eingesetzt und die optimalen Zahlenwerte für N_{S+B} und N_B errechnet.

Auch die Silberkorndichtebestimmung kann optimiert werden. Es ist möglich, mit Hilfe der Formeln von ENGLAND und MILLER (52), für jeden gewünschten Variationskoeffizienten

a) die auszuwertende Fläche,
b) die Anzahl der zu zählenden Silberkörner über einem radioaktiv markierten Gewebeareal A und
c) die zu bestimmenden Background-Körner

festzulegen.

Man muß dazu nur das Verhältnis P zwischen der Silberkorndichte λ_S über dem markierten Gewebe und der Korndichte λ_B über dem nicht markierten Background-Schnitt grob ermitteln und in die nachstehenden Gleichungen einsetzen. Die Anzahl der über dem radioaktiven Gewebe zu zählenden Silberkörner N_{S+B} errechnet sich dann nach:

$$N_{S+B} = \frac{\lambda_S A}{K} + \frac{1+P}{P} \cdot \frac{\sqrt{K(1+P)}}{1+\sqrt{K(1+P)}}$$

und die Zahl er zu ermittelnden Background-Körner über isotopfreiem Gewebe N_B nach:

$$N_B = \frac{\lambda_S A}{P\,(1+\sqrt{K(1+P)})}$$

Die insgesamt auszuwertende Fläche ist dann:

$$A = \frac{1}{\lambda_S . P\,(CV)^2} \left(1 + \sqrt{K(1+P)}\right)^2$$

K= Anzahl der auszuwertenden Schnitte (bei unseren Versuchen = 5) bei einem Background-Schnitt.

2.2.1.5.3. Auswertung und Statistik

Für die Auswertung unserer Meßergebnisse zu den verschiedenen untersuchten Substanzen wurde das umfangreiche Datenmaterial aus der mikroskopischen Untersuchung nach Korrektur des autoradiographischen Backgrounds zu folgenden Parametern zusammengefaßt:

1. Markierungsindex LI %
   Der Anteil der tatsächlich markierten Zellen P_S errechnet sich nach:

$$P_S = \frac{P_{S+B} - P_B}{1 - P_B} = \frac{N^*}{N} \left[\frac{\text{markierte Zellen}}{\text{totale Zellzahl}} \right]$$

$$CV_{(P_S)} = \frac{1 - P_{S+B}}{P_{S+B} - P_S} \sqrt{\frac{P_{S+B}}{(1-P_{S+B}) N_{S+B}} + \frac{P_B}{(1-P_B) N_B}}$$

   Nach Umrechnen in % ergibt P_S den Markierungsindex LI %:

$$LI\ \% = \frac{N^*}{N} \cdot 100 \left[\frac{\text{markierte Zellen}}{\text{totale Zellzahl}} \cdot 100 \right]$$

2. Silberkorndichte über der Zelle SDC
   Die tatsächliche Silberkorndichte errechnet sich als die Differenz zwischen der Silberkorndichte $\lambda_{S(Zelle)}$ über der radioaktiv markierten Zelle einschließlich Background und der Backgroundsilberkorndichte $\lambda_{B(Zelle)}$ über nicht radioaktiv markierten Zellen

$$SDC = \lambda_{S\ (Zelle)} - \lambda_{B\ (Zelle)};$$

   und die Standardabweichung s als die Quadratwurzel aus der Summe der Varianzen:

$$s = \pm \sqrt{s^2_{\lambda S} + s^2_{\lambda B}}$$

3. Mittlere Kornzahl pro Zelle gpc

$$gpc = \bar{x} = (x_1 + x_2 + x_3 \ldots\ldots + x_n)/n$$

$$s = \mp \sqrt{\frac{1}{n-1} \cdot \text{Summe}\ (x_1 - \bar{x})^2}$$

4. Silberkorndichte über dem Interstitium SDI analog Punkt 2:

$$SDI = \lambda_{S\ Interstitium} - \lambda_{B\ Interstitium}$$

$$s = \pm \sqrt{s^2_{\lambda S\ I} + s^2_{\lambda B\ I}}$$

5. Verteilungsindex VI

$$VI = \frac{SDC}{SDI}$$

Da pro Gelenk fünf Schnitte auszuwerten sind, erhält man pro Parameter fünf Mittelwerte, die über das gewogene arithmetische Mittel $\bar{\bar{x}}$ gew. weiter zusammengefaßt werden (170).

$$\bar{\bar{x}}\ \text{gew.} = \bar{\bar{x}} = \frac{n_1 \cdot \bar{x}_1 + n_2 \cdot \bar{x}_2 + \ldots\ldots n_5 \cdot \bar{x}_5}{n}$$

Mit der Standardabweichung innerhalb der Meßreihen:

$$s_{in} = \pm \sqrt{\frac{s_1^2\ (n_1-1) + s_2^2 (n_2-1) + \ldots\ldots s^2_5\ (n_5-1)}{n-5}}$$

Auf Signifikanz wird mittels Differenzen-t-Test geprüft. Dieser scharfe statistische Test dient zum Feststellen eindeutiger Unterschiede zwischen den Meßreihen von z.B. behandelten und unbehandelten Tieren, wobei je paarweise vermessen wird. Er ist erheblich schärfer als der t-Test, jedoch müssen dann stets zusammengehörende paarweise Bestimmungen ausgewertet werden.
Im Gegensatz zum normalen t-Test ist der Differenzen-t-Test auch dann einwandfrei, wenn keine Normalverteilung vorliegt und sich die Standardabweichungen der Meßreihen signifikant unterscheiden (35 , 93, 167).

Der Grund dafür liegt bei näherer Betrachtung darin, daß die hohe Streuung der Wiederholwerte offenbar an systematischen Differenzen von Schnittpaar zu Schnittpaar liegt oder auf die biologische Variabilität zurückzuführen ist, hingegen innerhalb eines Paares (linkes und rechtes Gelenk desselben Tieres) solche veränderlichen Differenzen nicht auftreten. Durch den Differenzen-t-Test werden alle Einflüsse auf die verglichenen Datenreihen bis auf die jeweils zu beurteilenden Einflußgrößen eliminiert(35 , 93).

Können einmal nicht Daten gesammelt werden, die gepaart sind, so ist es möglich, die Resultate aus zwei Serien randomisiert zu Paaren anzuordnen. Dadurch verliert der Test aber an Schärfe, da randomisiertes paaren weniger effektiv ist in der Reduzierung der Variabilität der Differenzen als Paarung, die auf genuinen Ähnlichkeiten zwischen den Gliedern jeden Paares beruht.

Sind $\bar{x}_1$ und $\bar{y}_1$ die Background-korrigierten Mittelwerte eines bestimmten Parameters aus dem linken und rechten Gelenk, dann ist:

$$\bar{x}_1 - \bar{y}_1 = d_1$$
$$\bar{x}_2 - \bar{y}_2 = d_2$$
$$\bar{x}_3 - \bar{y}_3 = d_3$$
$$\ldots\ldots\ldots\ldots$$
$$\bar{x}_n - \bar{y}_n = d_n$$

und $\bar{d}$ der Mittelwert der Differenzen.
Die Anzahl der Paare ist n, die Zahl der Freiheitsgrade (n-1). Die Standardabweichung s_d der Differenzen wird nach

$$s_d = \pm\sqrt{\frac{n \sum d^2 - (\sum d)^2}{n\,(n-1)}}$$ ermittelt und der

statistische Wert t durch:

$$t = \frac{\bar{d}}{s_d} \cdot \sqrt{n}$$ gegeben.

2.2.2. IN-VITRO-UNTERSUCHUNGEN

2.2.2.1. Vorversuch zur Ermittlung der Inkubationszeit

Um die Brauchbarkeit der von MOHR (143) für In-vitro-autoradiographische-Studien verwendeten Krebs-Ringer-Bicarbonatlösung (Tab.5) zu überprüfen und um eine geeignete Inkubationsdauer zu finden, wurde zunächst die Aufnahme von ^{3}H-Prolin, ^{35}S-Sulfat und ^{3}H-Glucosamin in den Gelenkknorpel gesunder Tiere untersucht.
Gleichzeitig sollte die knorpelschädigende Wirkung des von KALBHEN und BLUM (100) zur Auslösung einer tierexperimentellen Modell-Arthrose benutzten Natrium-Monojodacetats (MJA) autoradiographisch demonstriert werden.
Die negative Wirkung dieser Substanz beruht auf der Inhibierung SH-Gruppen enthaltender anaboler Enzyme (81) und müßte insbesondere durch Präkursorinkorporationsstudien nachweisbar sein.
Dazu inkubierten wir die Femurkondylen von 15 gesunden Hühnern bei 37 °C in 10 ml Krebs-Ringer-Bicarbonatlösung gemäß dem in Tab. 6 wiedergegebenen Schema.
Die Aufarbeitung, Autoradiographie und Auswertung führten wir wie unter Punkte 2.1. angegeben durch.

Tabelle 5: Zusammensetzung des verwendeten Inkubationsmediums (x Teile der n %igen Lösungen werden gemischt)

Lösung	%-Gehalt	Mischungsverhältnis (Teile)
NaCl	0.90	100
KCl	1.15	4
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	1.62	3
KH_2PO_4	2.11	1
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	3.82	1
$NaHCO_3$	1.30	21
Glucose	2.34	1

Tabelle 6 : Versuch zur Ermittlung einer geeigneten Inkubationszeit und zum autoradiographischen Nachweis der inhibitorischen Wirkung von MJA

Gruppen Nr.	Tier-Nr.	Untersuchungsmaterial	Inhibitor-Konz. (mg/ml)	Präkursor	Präkursor-Konz. (µCi/ml)	Inkubationszeit (h)
I a	1 2 3 4 5	linke Kondylen	-	^{3}H-Prolin	2,5	1 2 5 16 24
I b	1 2 3 4 5	rechte Kondylen	5	^{3}H-Prolin	2,5	1 2 5 16 24
II a	6 7 8 9 10	linke Kondylen	-	$^{35}SO_4^{2-}$	1	2 4 8 16 32
II b	6 7 8 9 10	rechte Kondylen	5	$^{35}SO_4^{2-}$	1	2 4 8 16 32
III a	11 12 13 14 15	linke Kondylen	-	^{3}H-Glucosamin- HCl	2,5	1 2 8 16 24
III b	11 12 13 14 15	rechte Kondylen	2	^{3}H-Glucosamin- HCl	2,5	1 2 8 16 24

2.2.2.2. Versuchsablauf

Gruppen von "n" gesunden Tieren werden getötet.
Zur Vermeidung von starker Abkühlung und Trocknungsartefakten erfolgt die Präparation beider Kniegelenke innerhalb von ca. 5 Minuten. Die vom Femurschaft abgetrennten Kondylen werden in Zentrifugiergläser mit 10 ml Krebs-Ringer-Bicarbonatlösung überführt, der 200 IE/ml Penicillin G und 200 IE/ml Streptomycin zugesetzt wurden.
Nach 45-minütiger Vorinkubation bei 37°C tauchen die Femurkondylen in gläsernen Inkubationsgefäßen (Zentrifugiergläser 100 ml mit Schraubverschluß) mit Hilfe einer Hängevorrichtung freischwebend in 10 ml radioaktiver antibiotikahaltiger Inkubationslösung. Das Medium der Verumgruppe (linke Kondylen) enthält neben dem markierten Präkursor die jeweils zu untersuchende Substanz. Die Kondylen des rechten Tierbeines dienen als Kontrollen und werden ohne Arzneimittelzusatz inkubiert.
Nach drei Stunden wird die Präkursorinkorporation durch dreimaliges Spülen mit je 10 ml eisgekühlter Pufferlösung unterbrochen und das Gewebe eine Woche in 4 %igem Formalin nach LILLIE (pH7) (156) fixiert. Die Entkalkung der knöchernen Anteile erfolgt während 14 Tagen in 25 %iger EDTA-Lösung bei pH 7,4 und Raumtemperatur.
Nach eintägigem Wässern (dreimaliger Wechsel) wird das Material wie folgt entwässert und in Paraplast plus übertragen:

Entwässerungsmedium	Einwirkungszeit (h)	Temperatur (°C)
Propan-2-ol 50 %	24	20
Propan-2-ol 80 %	24	20
Propan-2-ol 90 %	24	20
Propan-2-ol 100 %	24	20
Propan-2-ol 100 %	24	20
Xylol	2	20
Xylol	1	20
Paraplast plus	24	60
Paraplast plus	48	60

Nach der Einbettung der Femurkondylen in Paraplastblöcke entsprechender Größe werden mit dem Mikrotom je Gelenk sechs Schnitte von nominal 5 µm Dicke hergestellt.

2.2.2.3. Tierisches Gelenkknorpelgewebe

Die stets voneinander unabhängigen Versuchsreihen werden im folgenden zur besseren Übersicht tabellarisch unter Verzicht auf die Kontrollen dargestellt(Kontrollen: gleiche Behandlung, aber ohne Prüfsubstanz).

2.2.2.3.1. NSAID

Untersuchte Substanz	Konzentration mg/ml	Präkursor	Präkursor Konz. µCi/ml	Tierzahl
Indometacin	0.200	^{3}H-Glucosamin	2.5	5
Indometacin	1.000	^{3}H-Glucosamin	2.5	5
Na-Salicylat	0.500	^{3}H-Glucosamin	2.5	5
Na-Salicylat	2.000	^{3}H-Glucosamin	2.5	5

2.2.2.3.2. Glukokortikoide

Untersuchte Substanz	Konzentration mg/ml	Präkursor	Präkursor Konz. µCi/ml	Tierzahl
Dexamethason-o-phosphat	0.020	^{3}H-Glucosamin	2.5	5
Dexamethason-o-phosphat	0.200	^{3}H-Glucosamin	2.5	5

2.2.2.3.3. Antiarthrotika

Untersuchte Substanz	Konzentration mg/ml	Präkursor	Präkursor Konz. µCi/ml	Tierzahl
GAGPS	0.010	^{3}H-Glucosamin	2.5	8
GAGPS	0.100	^{3}H-Glucosamin	2.5	8
GAGPS	1.000	^{3}H-Glucosamin	2.5	8
DAK-16	0.010	^{3}H-Glucosamin	2.5	8
DAK-16	0.100	^{3}H-Glucosamin	2.5	8
DAK-16	1.000	^{3}H-Glucosamin	2.5	8
PentosanPS	0.001	^{3}H-Glucosamin	2.5	8
PentosanPS	0.010	^{3}H-Glucosamin	2.5	8
PentosanPS	0.100	^{3}H-Glucosamin	2.5	8

GAGPS = Glykosaminoglykanpolysulfat
DAK-16 = Glykosaminoglykan-Peptid-Komplex
PentosanPS = Pentosanpolysulfat

Untersuchte Substanz	Konzentration mg/ml	Präkursor	Präkursor Konz. µCi/ml	Tierzahl
Oxaceprol	0.010	^{3}H-Glucosamin	2.5	5
Oxaceprol	0.100	^{3}H-Glucosamin	2.5	5
Oxaceprol	0.010	^{3}H-Prolin	2.5	5
Oxaceprol+ GAGPS	0.010 0.010	^{3}H-Glucosamin	2.5	5
Oxaceprol+ GAGPS	0.010 0.010	^{3}H-Prolin	2.5	5

Zusätzlich wurden an je fünf Tieren Lokalisationsstudien mit 1 µCi/ml ^{14}C-Monojodacetat und 1 µCi/ml ^{3}H-Arteparon durchgeführt.

2.2.2.4. Humanes Gelenkknorpelgewebe

Die Inkubation der ca. 200 mg schweren Knorpelproben erfolgte analog dem Versuchsablauf für tierisches Gewebe. Lediglich die Menge an Inkubationsmedium wurde auf 2 ml reduziert, so daß die Inkubation in 10 ml Reagenzgläsern mit Schliffstopfen durchgeführt werden konnte.
Da das Biopsiematerial frei von subchondralem Knochengewebe war, wurde auf die Entkalkung in EDTA verzichtet.

2.2.2.4.1. NSAID

Untersuchte Substanz	Konzentration mg/ml	Präkursor	Präkursor Konz. µCi/ml	Probenzahl	
Diclofenac-Na	0.025	^{3}H-Glucosamin	2.5	6	
Diclofenac-Na	0.250	^{3}H-Glucosamin	2.5	6	
-	-	^{3}H-Glucosamin	2.5	6	Kontr.
Orgotein	0.200	^{3}H-Glucosamin	2.5	7	
Orgotein	1.000	^{3}H-Glucosamin	2.5	7	
Orgotein+ GAGPS	0.200 0.010	^{3}H-Glucosamin	2.5	7	
Orgotein+ GAGPS	1.000 0.010	^{3}H-Glucosamin	2.5	7	
-	-	^{3}H-Glucosamin	2.5	7	Kontr.

2.2.2.4.2. Glukokortikoide

Untersuchte Substanz	Konzentration mg/ml	Präkursor	Präkursor Konz. µCi/ml	Probenzahl	
Dexamethason-o-phosphat	0.020	^{3}H-Glucosamin	2.5	10	
Dexamethason-o-phosphat+ GAGPS	0.020 0.010	^{3}H-Glucosamin	2.5	10	
-	-	^{3}H-Glucosamin	2.5	10	Kontr.

2.2.3. IN-VITRO-INKORPORATION NACH IN-VIVO-APPLIKATION DER ZU UNTERSUCHENDEN SUBSTANZ

Die Prüfsubstanz wurde in einem geeingeten Lösungsmittel gelöst und die Konzentration dabei so gewählt, daß die zu applizierenden Substanzmengen in 0,1 ml Lösung enthalten waren.

2.2.3.1. Kurzzeit-Versuche

Die Injektionen der Substanzlösungen erfolgten in die linken Kniegelenke, die jeweiligen rechten Gelenke erhielten zur Kontrolle 0,1 ml des reinen Lösungsmittels. Am fünften Versuchstag wurden die Tiere getötet und der ^{3}H-Glucosamin-Gehalt des Knorpels nach In-vitro-Inkorporation mit 2,5 µCi/ml autoradiographisch bestimmt.

2.2.3.1.1. NSAID

Substanz	Lösungsmittel	Dosis mg	Injektionsschema	Versuchsdauer d	Tierzahl
Na-Salicylat	Aqua p.i.	20	1.u.2.Tag	4	3
Diclofenac-Na	0.9% NaCl	1	1.u.4.Tag	4	3
Indometacin	Propandiol	1	1.u.4.Tag	4	3

2.2.3.1.2. Glukokortikoide

Substanz	Lösungsmittel	Dosis mg	Injektionsschema	Versuchsdauer d	Tierzahl
Triamcinolon-hexaacetonid Lederlon^{R}	handelsübliche Ampulen	0.5	1.u.4.Tag	4	3

2.2.3.1.3. Antiarthrotika

Substanz	Lösungsmittel	Dosis mg	Injektionsschema	Versuchsdauer d	Tierzahl
GAGPS	0.9% NaCl	0.1	1.u.4.Tag	4	3
DAK-16	0.9% NaCl	0.1	1.u.4.Tag	4	3
Oxaceprol	10% $NaHCO_3$	0.1	1.u.4.Tag	4	5
Oxaceprol	10% $NaHCO_3$	0.2	1.u.4.Tag	4	5

2.2.3.2. Langzeit-Versuche

Die Injektion der Prüfsubstanz erfolgte in wöchentlichen Abständen intraartikulär in einem Volumen von 0,1 ml. Am Versuchsende wurden die Tiere getötet und die ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme in vitro durch Inkubation aller Gelenke während drei Stunden in 2,5 µCi/ml ^{3}H-Glucosamin bestimmt.

2.2.3.2.1. NSAID

Zwei Versuchstiergruppen wurden wie folgt behandelt:

1. Gruppe: 8 Tiere, linkes Kniegelenk 2,0 mg Diclofenac-Na
rechtes Kniegelenk 0,1 ml Lösungsmittel
Versuchsdauer: 16 Wochen
Lösungsmittel: 0,9 % NaCl

2. Gruppe: 5 Tiere, linkes Kniegelenk 0,5 mg Fenbufen
rechtes Kniegelenk 2,0 mg Fenbufen
Versuchsdauer: 12 Wochen
Lösungsmittel: Propandiol

2.2.3.2.2. Glukokortikoide

Vier Tierkollektive wurden folgendem Behandlungsschema unterworfen:

1. Gruppe: 3 Tiere,	linkes Kniegelenk	1,0 mg Dexamethason-o-phosphat
	rechtes Kniegelenk	1,0 mg Dexamethason-o-phosphat und 0,1 mg GAGPS
	Versuchsdauer:	6 Wochen
	Lösungsmittel:	0,9 % NaCl
2. Gruppe: 3 Tiere,	linkes Kniegelenk	1,0 mg Dexamethason-o-phosphat
	rechtes Kniegelenk	1,0 mg Dexamethason-o-phosphat und 0,1 mg GAGPS
	Versuchsdauer:	12 Wochen
	Lösungsmittel:	0,9 % NaCl
3. Gruppe: 3 Tiere,	linkes Kniegelenk	1,0 mg Dexamethason-o-phosphat
	rechtes Kniegelenk	1,0 mg Dexamethason-o-phosphat und 0,1 mg DAK-16
	Versuchsdauer:	6 Wochen
	Lösungsmittel:	0,9 % NaCl
4. Gruppe: 3 Tiere,	linkes Kniegelenk	1,0 mg Dexamethason-o-phosphat
	rechtes Kniegelenk	1,0 mg Dexamethason-o-phosphat und 0,1 mg DAK-16
	Versuchsdauer:	12 Wochen
	Lösungsmittel:	0,9 % NaCl

In Gruppe 1., 2., und 4. starb je ein Tier vor Ende des Versuches und geht nicht in die Auswertung ein.

2.2.4. ^{3}H-MONOJODACETAT-VERTEILUNGSSTUDIE IN VIVO

Um die Lokalisation von Tritium-markiertem Monojodacetat im Gelenkknorpel gesunder Hühner unter In-vivo-Bedingungen festzustellen und die Verweildauer im Knorpelgewebe zu überprüfen, injizierten wir zwölf Tieren eine Dosis von 50 µCi ^{3}H-Monojodacetat, gelöst in 0,1 ml Aqua p.i., in das linke Kniegelenk. Nach 2, 4, 8 und 24 Stunden wurden je drei Tiere getötet und der autoradiographischen Untersuchung zugeführt.

3. ERGEBNISSE

3.1. VORVERSUCHE ZUR METHODIK

3.1.1. VORVERSUCHE ZUR ABLEITUNG EINES HISTOAUTORADIOGRAPHISCHEN STANDARDVERFAHRENS

3.1.1.1. Einfluß histologischer Fixierungsmittel

Der Einfluß verschiedener histologischer Fixierungsmittel auf die Silberkorndichte in Autoradiogrammen ist in Tab. 7 dargestellt.

Tabelle 7 : Effekt der histologischen Fixierung auf die Intensität der autoradiographischen Reaktion (n=3)

Fixierlösung	Silberkorndichte über Zellen ($\bar{x} \pm s$) (Körner/µm²)	rel. s %	Bemerkung
Propan-2-ol 96 %	0.411 ± 0.1585	38.56	Schrumpfung
Trichloressigsäure 5 %	0.289 ± 0.1845	63.84	Quellung
Formalin 4 % nach LILLIE (pH 7,0)	0.558 ± 0.0574	10.29	-
Glutaraldehyd 1 % (Phosphatpuffer, pH 7,3)	0.538 ± 0.1008	18.74	-

Mit einer relativen Standardabweichung von 10,29 % lieferte Formalin 4 % nach LILLIE das beste Ergebnis.
Beide Aldehyd-Fixative ließen mäkroskopisch weder eine Schrumpfung noch eine Quellung des Gewebes erkennen. Bezüglich der Retention inkorporierter Radioaktivität war zwischen ihnen kein Unterschied feststellbar.
Stark streuende Mittelwerte wurden mit Isopropanol und vor allem mit Trichloressigsäure erhalten. Die deutlich erniedrigte Silberkorndichte unter Trichloressigsäure 5 % läßt darauf schließen, daß

ein großer Teil des zunächst strukturgebundenen Präkursors entweder im Fixativ selbst oder während der nachfolgenden Dehydratisierung und Einbettung verloren geht. Die beobachtete Gewebequellung kann in diesem Zusammenhang ein unterstützender Faktor gewesen sein.
Die Aktivitätsverluste während der Isopropanol-Fixierung scheinen im Vergleich mit der Trichloressigsäure-Fixierung zwar geringer zu sein, berücksichtigt man aber die starke Schrumpfung des Gewebes, so ist wahrscheinlich kein wesentlicher Unterschied mehr feststellbar, da aufgrund des Auswertungsmodus bei gleicher Anzahl inkorporierter radioaktiver Moleküle jede Verminderung des auswertbaren Gewebeareals zu einer Erhöhung der Silberkorndichte über den Zellen führt.

3.1.1.2. Ermittlung der optimalen Expositionszeit und radioaktiven Konzentration

Tab. 8 und Tab. 9 zeigen das Ergebnis unseres Versuches zur Ermittlung der optimalen Expositionszeit und radioaktiven Konzentration.

Tabelle 8 : Intensität der autoradiographischen Reaktion in Abhängigkeit von radioaktiver Konzentration und Expositionszeit

Radioaktive Konzentration µCi/ml	Silberkorndichte SD in Körnern/µm² nach einer Expositionszeit von			
	7 Tagen	14 Tagen	21 Tagen	28 Tagen
0.5	0.143	0.229	0.273	0.308
1.0	0.222	0.305	0.349	0.381
1.5	0.272	0.353	0.380	0.413
2.0	0.309	0.379	0.399	0.432
2.5	0.329	0.398	0.419	0.444
3.0	0.350	0.414	0.429	0.452
3.5	0.369	0.424	0.440	0.458
4.0	0.379	0.432	0.453	0.464
4.5	0.392	0.439	0.457	0.467
5.0	0.401	0.444	0.462	0.470

Tabelle 9 : Einfluß der Expositionszeit auf die Entwicklung des autoradiographischen Backgrounds

Radioaktive Konzentration µCi/ml	Background-Korndichte in Körnern/µm² nach einer Expositionszeit von				
	0 Tagen	7 Tagen	14 Tagen	21 Tagen	28 Tagen
-	0.0096	0.0131	0.0155	0.0189	0.0293

Die Kurve in Abb. 23 gibt den Zusammenhang zwischen Silberkorndichte und Exposition, als dem Produkt aus radioaktiver Konzentration und Zeit, wieder.

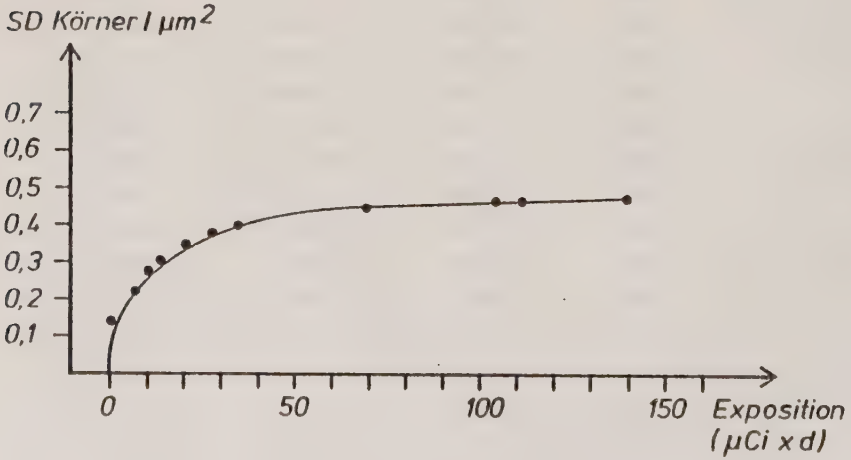


Abbildung 23 : Autoradiographische Reaktion (Körner/µm²) in Abhängigkeit von der Exposition [µCi x Zeit (d)]

Bis etwa 0,1 Körner/µm² kann die Steigung als linear betrachtet werden. Der weitere Kurvenverlauf nähert sich asymptotisch einem Maximalwert.
Für eine bestimmte radioaktive Konzentration nimmt danach, bei niedriger Silberkorndichte, die Kornzahl linear mit der Exposition zu.
Trägt man die Kornzahl/µm² graphisch gegen den Logarithmus der Exposition auf (Abb. 24), so wird die direkte Proportionalität zwischen der Silberkorndichte und dem Logarithmus der Exposition deutlich.

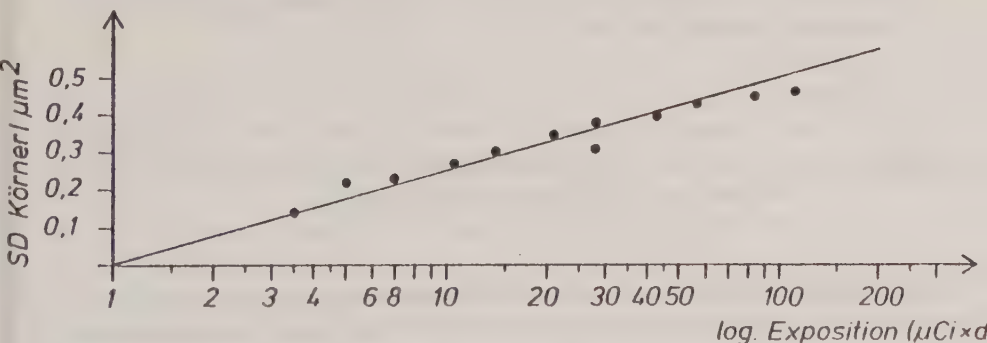


Abbildung 24 : Graphische Bestätigung der von SILBERSTEIN (zit.bei 137) postulierten logarithmischen Beziehung zwischen Silberkornzahl und Exposition

Die Background-Kornzahl während einer 28 Tage dauernden Exposition folgt einer Geraden mit geringer Steigung (Abb. 25) und kann als eine lineare Funktion der Expositionszeit betrachtet werden.

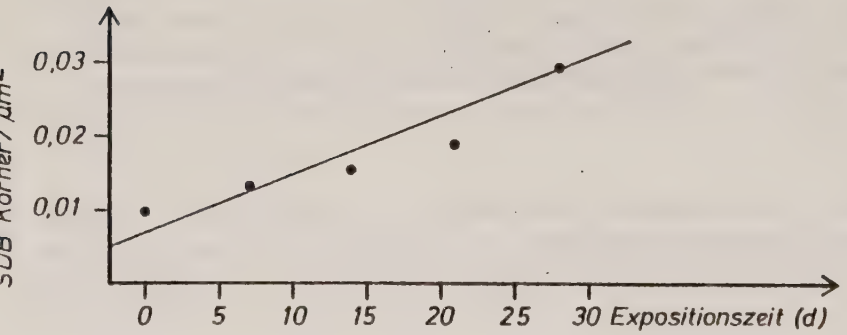


Abbildung 25: Entwicklung des autoradiographischen Backgrounds während einer 28-tägigen Exposition

Die optimalen Werte für radioaktive Konzentration und Exposition ergeben sich, wenn die Resultate aus Tab. 8 und Tab. 9 in Relation zueinander dargestellt werden.
Abb. 26 zeigt den Wirkungsgrad der Autoradiogramme, als den Quotienten aus Silberkorndichte SD und Background-Korndichte SDB, für die vier verschiedenen Expositionszeiten in Abhängigkeit von der radioaktiven Konzentration.

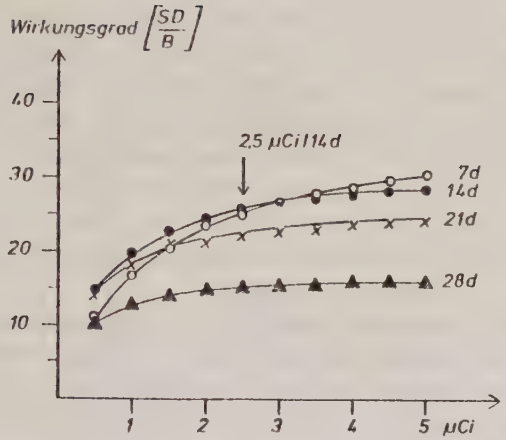


Abbildung 26: Wirkungsgrad von Autoradiogrammen bei verschiedenen radioaktiven Konzentrationen und Expositionszeiten

Der höchste Wirkungsgrad bei niedrigstem Einsatz an radioaktivem Material wird unter den gegebenen Versuchsbedingungen mit 2,5 µCi/ml und einer Expositionszeit von 14 Tagen erzielt.

3.1.1.3. Entwicklungsbedingungen in Kodak D 19 Developer

Um Autoradiogramme hoher Reproduzierbarkeit zu erhalten, versuchten wir, die Entwicklungsbedingungen zu bestimmen, die eine maximale Silberkornzahl bei niedrigem Background und lichtmikroskopisch adäquater Korngröße liefern. Das Ergebnis ist in Abb. 27 dargestellt. Der photographische Entwickler reduziert jene Silberbromidkristalle, die das latente Bild tragen, rasch zu Körnern metallischen Silbers. Die nicht-exponierten Kristalle sind in diesen Prozeß gleichermaßen, aber mit einer Verzögerung, einbezogen. Wird die Reaktion früh genug durch eine Thiosulfatlösung unterbrochen, so werden die nichtexponierten Kristalle aus der Emulsion herausgelöst und allein die reduzierten Kristalle bleiben zurück.

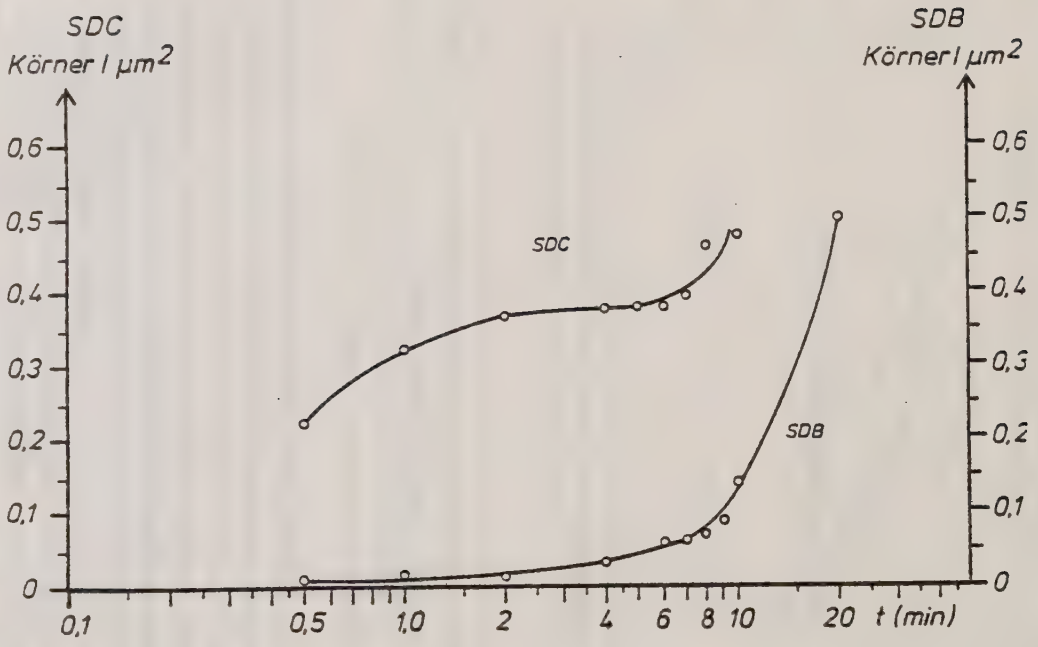


Abbildung 27: Entwicklungsverhalten von Ilford L4 Emulsion in Kodak D 19 Entwickler

SDC = Silberkorndichte über Zellen
SDB = Background-Korndichte

Zu Beginn der Reaktion steigt die Zahl der aus exponierten Kristallen entwickelten Körner rasch an, erreicht - wie aus Abb. 27 hervorgeht - nach 2 Minuten eine Plateauphase (während der die Silberkörner rasch an Größe zunehmen) und zeigt nach der 7. Minute nach Entwicklungsbeginn wieder einen deutlichen Anstieg. Die Backgroundkörner bleiben während der ersten 7 Minuten im Entwicklerbad auf einer zahlenmäßig niedrigen Ebene und nehmen dann mit fortschreitender Entwicklung exponentiell an Zahl zu.

Es ist nicht einfach, absolut reproduzierbare Entwicklungsbedingungen einzuhalten und deshalb sicher ein Fehler, die Entwicklungszeit nur mit Blick auf möglichst niedrige Backgroundwerte auszuwählen. Schon leichte Variationen, wie z.B. die unvermeidbaren Schüttelbewegungen, die die Autoradiogramme während des Eintauchens in die Entwicklerlösung erfahren, können besonders bei kurzen Entwicklungszeiten ausreichen, um die Zahl der Backgroundkörner zu erhöhen.
Unter diesem Aspekt und unter Berücksichtigung der Korngröße, die lichtmikroskopisch eine mühelose visuelle Auszählung ermöglicht, halten wir eine Entwicklungszeit von 6 Minuten für optimal.
Wird der Entwicklungsprozeß nach 4 Minuten abgebrochen, so ist die Background-Korndichte zwar niedriger, aber die Größe der Silberkörner noch zu gering, um eine rasche und sichere Ermittlung der Kornzahl zu erlauben.
Von einer Agitation des Entwicklerbades wurde aus technischen Gründen Abstand genommen.

3.1.1.4. Trocknungs- und Expositionsbedingungen

Die Auswirkungen unterschiedlicher Trocknungs- und Expositionsbedingungen auf die Silberkornzahl über radioaktiv markierten Zellen sind den Tab. 10 und 11 zu entnehmen.

Tabelle 10: Einfluß der Trocknungsgeschwindigkeit einer Ilford L4 Emulsionsschicht auf die Silberkorndichte über ^{3}H-Prolin-markierten Zellen

Trocknungs-temperatur	relative Luft-feuchtig-keit %	Trocknungs-zeit min.	Silberkorn-dichte (SDC) Körner/µm²	Artefakte
+ 4°C (eisgekühl-te Blech-platte	60	60	0.4195	-
+ 20°C (Glasplatte)	60	60	0.4195	(+)
+ 40°C (Heiztisch)	60	30	0.5537	++
+ 40°C (Trocken-schrank)	40	30	0.6712	+++

Die Trocknungsgeschwindigkeit einer Emulsionsschicht ist unter anderem von der Trocknungstemperatur und der relativen Luftfeuchtigkeit im Trockenraum abhängig. In Tab. 10 sind 4 Trocknungsbedingungen, die im histologischen Labor leicht verifiziert werden können und die daraus resultierenden Silberkorndichten in der Reihenfolge zunehmender Trocknungsgeschwindigkeit aufgeführt.

Wie aus Tab. 10 hervorgeht, variiert die Silberkorndichte über den Chondrozyten in Abhängigkeit von der Trocknungsgeschwindigkeit der Emulsionsschicht. Während eine Trocknung bei Raumtemperatur gleiche Silberkorndichten liefert, wie die Trocknung im Gelzustand (4 °C), ergeben Autoradiogramme, die bei 40 °C auf dem Heiztisch oder im Trockenschrank getrocknet wurden, deutlich höhere Silberkorndichten. Diese Erhöhung beruht aber allein auf der Bildung von Artefakten, die aufgrund der starken Druckbelastungen innerhalb der Emulsionsschicht durch die abrupte Volumenkontraktion unter diesen Trocknungsbedingungen zustande kommen. Silberkornreihen erscheinen im mikroskopischen Bild längst der Irregularitäten des Gewebes, und Kornklumpen befinden sich sowohl über dem Schnitt als auch über Glas.
Die den Trockenschrankbedingungen unterworfenen Emulsionsschichten lieferten schon bei makroskopischer Betrachtung ein uneinheitliches Erscheinungsbild.

Die Lagerungsbedingungen während der Exposition können

1. die Senitivität der individuellen Silberhalogenidkristalle,
2. die Regression des latenten Bildes und
3. das Ausmaß der Backgroundbildung

beeinflussen.

Tabelle 11: Effekt unterschiedlicher Expositionsbedingungen auf die mittlere Kornzahl pro µm²

Expositionsbedingung	Silberkorndichte (SDC) Körner/µm²
20 °C	0.1628
20 °C Blaugel	0.1989
4 °C	0.2553
4 °C Blaugel	0.4201
- 20 °C	0.3425
- 20 °C Blaugel	0.4125

Unsere in Tab. 11 in Form von Körnern pro µm² dargestellten Meßergebnisse deuten darauf hin, daß sich der an zweiter Stelle genannte Effekt besonders stark auswirkt (latent image fading stark bei Feuchtigkeit und hoher Temperatur).

Aus diesen Vorversuchen schließen wir:
Ein Trocknen der Emulsionsschicht im Gelzustand und Exposition bei 4 °C über Blaugel ergeben die besten Resultate.

3.1.1.5. Gleichmäßigkeit und Reproduzierbarkeit der Emulsionsschicht unter "dipping"-Bedingungen

Zur Beurteilung, ob unter "dipping"-Bedingungen gleichmäßige und reproduzierbare Emulsionsschichten erhalten werden, tauchten wir 15 saubere Objektträger bis zum Mattrand in geschmolzene radioaktive Photoemulsion und ermittelten nach der photographischen Entwicklung systematisch die Silberkorndichten vom Objektträger-Mattrand bis zum entgegengesetzten Ende (Basis) des Objektträgers. Die Meßdaten dieses Vorversuches sind in Tab. 12 dargestellt.

Tabelle 12: Variation der Silberkorndichte mit zunehmender Distanz vom oberen Mattrand des Objektträgers (n=15)

Abstand vom Mattrand in cm	Silberkorndichte Körner/µm² (SD) $\bar{x} \pm s$	relative SD %
1.0	0.3781 ± 0.0281	7.43
2.0	0.3859 ± 0.0299	7.75
3.0	0.4213 ± 0.0523	12.41
4.0	0.4101 ± 0.0557	13.58

Die Silberkorndichten aus Tab. 12 stellen indirekt ein Maß für die Dicke der produzierten Emulsionsschicht dar. Erwartungsgemäß besteht ein Dickengradient vom Mattrand zur Basis des Objektträgers. Die Erniedrigung der SD im Abstand von 4 cm vom Mattrand beruht wahrscheinlich auf dem Saugeffekt der unterliegenden Kleenextücher (vergleiche Punkt 2.2.1.4. Beschreibung der autoradiographischen Technik).

Mit einer relativen Standardabweichung von rund 7 bis 14 % liefert die "dipping"-Methode durchaus reproduzierbare Emulsionsschichtdicken. Quantitative Untersuchungen sollten aber auf Schnitte, die im Abstand bis zu 3 cm vom Mattrand lokalisiert sind, beschränkt bleiben.

3.1.2. VORVERSUCH ZUR ERMITTLUNG DER INKUBATIONSZEIT

Die Aufnahme von ^{3}H-Prolin, ^{35}S-Sulfat und ^{3}H-Glucosamin in den Gelenkknorpel erfolgte überwiegend während der ersten 3 bis 4 Stunden. Aus der Abb. 28 ist zu entnehmen, daß Natrium-Monojodacetat in einer Konzentration von 5 mg/ml Inkubationsmedium zu einer signifikanten Erniedrigung der Zahl der radiomarkierten Chondrozyten führte.
Die Verminderung der Einbaurate gegenüber den Kontrollen zeigte sich nicht nur bei der Aufnahme des Prolins, sondern betraf gleichermaßen die Inkorporation von radioaktivem Sulfat in den Gelenkknorpel gesunder Hühner (Abb. 29).

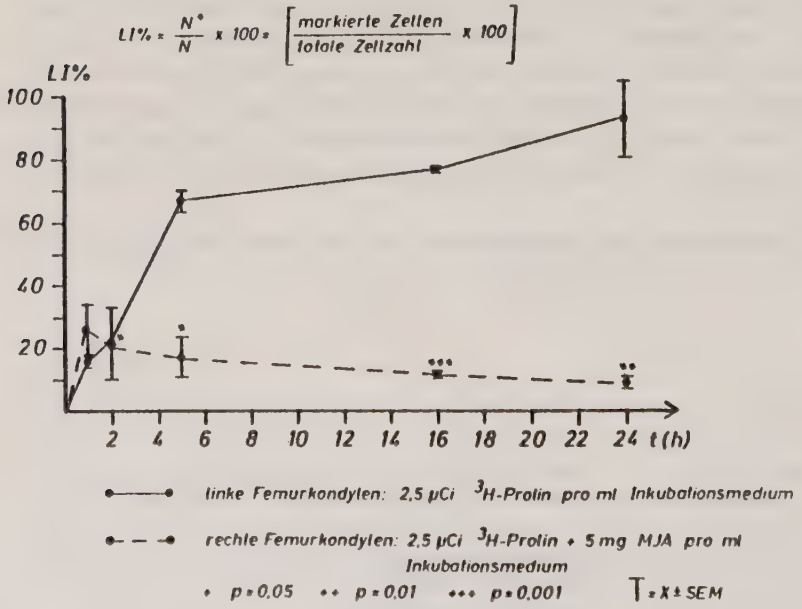


Abbildung 28: Einfluß von Natrium-Monojodacetat auf die Inkorporation von ^{3}H-Prolin, dargestellt als Änderung des Markierungsindex LI % in Abhängigkeit von der Inkubationszeit

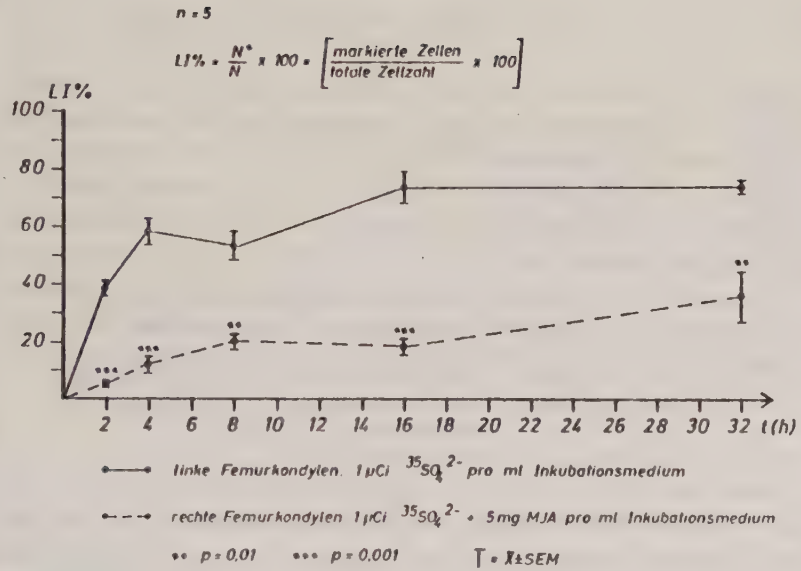


Abbildung 29: Verminderung der ^{35}S-Sulfat-Aufnahme in den Gelenkknorpel gesunder Hühner nach Einwirkung des Inhibitors Natrium-Monojodacetat

Wie aus der Abb. 30 hervorgeht, hat eine Konzentration von 2 mg Monojodacetat pro ml auf die Aufnahme von Tritium-markiertem Glucosamin einen geringen, aber dennoch statistisch signifikanten Einfluß.

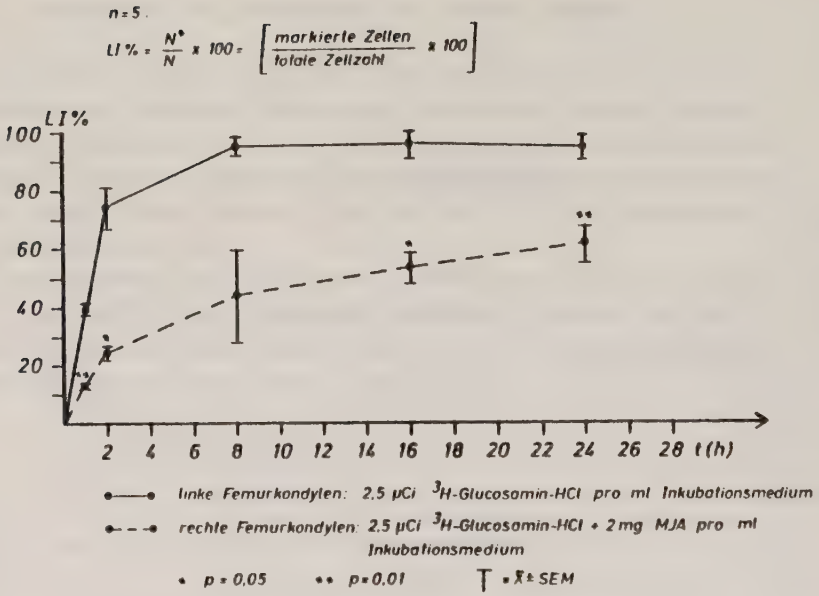


Abbildung 30: Änderung des ^{3}H-Glucosamin-Einbaus in Glykosaminoglykane während einer 24-stündigen Inkubation mit 2 mg Monojodacetat pro ml Inkubationsmedium.

Unter Berücksichtigung der genannten Ergebnisse wählten wir für unsere Präkursor-Inkorporationsstudien eine Inkubationszeit von 3 Stunden.

3.2. ERGEBNISSE AUS DEN HAUPTVERSUCHEN IN VITRO

3.2.1. TIERISCHES GELENKKNORPELGEWEBE

3.2.1.1. NSAID

Nichtsteroidale Antiphlogistika werden vielfach zur Behandlung von entzündlichen und auch degenerativen Gelenkerkrankungen eingesetzt. Die Therapie mit diesen Arzneimitteln ist aber mit einer Reihe von Problemen behaftet. Obwohl NSAID den Gelenkknorpel vor katabolen Prozessen zu schützten vermögen (34), können sie aber auch den Knorpelstoffwechsel negativ im Sinne einer Hemmung der Glykosaminoglykansynthese beeinflussen.
In diesem Zusammenhang interessierte uns die Frage, ob NSAID die Präkursorinkorporation in gesundes Knorpelgewebe beeinflussen können.

3.2.1.1.1. Indometacin

Die Ergebnisse unserer Messungen über die Auswirkungen zweier unterschiedlicher Indometacin-Konzentrationen auf die Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den Gelenkknorpel gesunder Hühner in vitro, sind in der Tabelle 3.2.1.1.1. des tabellarischen Anhangs detailliert aufgeführt. Während sich kein Einfluß auf den Markierungsindex LI erkennen läßt, erwies sich Indometacin, gemessen an der mittleren Kornzahl pro Zelle gpc, von inhibitorischer Wirkung. Bei einer Konzentration von 0,20 mg/ml im Inkubationsmedium konnte Indometacin noch keine signifikante Beeinträchtigung der Glucosamin-Aufnahme bewirken. Die Erniedrigung der mittleren Kornzahl pro Zelle bei einer Indometacin-Konzentration von 1 mg/ml um 39,42 % gegenüber dem Kontrollwert, war statistisch jedoch hochsignifikant (Tab. 13).

Tabelle 13: Absolute und prozentuale Änderung der mittleren Silberkornzahl pro Zelle (gpc) nach Einwirkung von Indometacin gegenüber unbehandelten Kontrollen

Indometacin mg/ml	gpc $\bar{x} \pm s$	Signifikanz	% Abnahme
Kontrolle	6.95 ± 0.737		
0.20	6.87 ± 0.976	n.s.	- 1.15
1.00	4.21 ± 0.922	$p < 0.001$	- 39.42

n = 10
Differenzen-t-Test

3.2.1.1.2. Natrium-Salicylat

Die Meßdaten aus den unter Zugabe von Natrium-Salicylat inkubierten Knorpelproben, sind in Tab. 3.2.1.1.2. im Anhang wiedergegeben. Die mittlere Silberkornzahl pro Zelle gpc als Zeichen einer erniedrigten ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme wurde konzentrationsabhängig von 6,87 ± 0,976 auf 2,65 ± 0,489 vermindert. Die Werte waren für die Natrium-Salicylat-Konzentration von 0,5 mg/ml mit 10,77 % und für 2 mg/ml mit 61,43 % Abnahme auf den 5 bzw. 0,1 %-Niveau signifikant (Tab. 14).

Tabelle 14: Verminderung der mittleren Silberkornzahl pro Zelle gpc als Zeichen einer erniedrigten ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme nach Inkubation mit Natrium-Salicylat

Natrium-Salicylat mg/ml	gpc $\bar{x} \pm s$	Signifikanz	% Abnahme
Kontrolle	6.87 ± 0.976		
0.50	6.13 ± 1.170	$p < 0.05$	- 10.77
2.00	2.65 ± 0.489	$p < 0.001$	- 61.43

n = 10
Differenzen-t-Test

3.2.1.2. Glukokortikoide

3.2.1.2.1. Dexamethason-o-phosphat

Wie aus Tab. 3.2.1.2.1. (Anhang) zu entnehmen ist, bestätigen unsere Resultate die klinischen und experimentellen Beobachtungen, daß Kortikosteroide zu einer Schädigung der Knorpelstrukturen führen können (42,48,132,147,159).
Während anhand des Markierungsindexes LI % keine Beeinflussung feststellbar ist, verminderte Dexamethason-o-phosphat in einer Konzentration von 0,02 bzw. 0,20 mg pro ml Inkubationsmedium die mittlere Kornzahl pro Zelle von 15,49 auf 14,60 bzw. 9,65 entsprechend einer Abnahme des Glucosamin-Einbaus von 7,3 bzw. 38,7 % (Tab. 15).

Tabelle 15: Abnahme der mittleren Silberkornzahl pro Zelle gpc als Zeichen einer verminderten ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation nach Inkubation in einem Dexamethason-o-phosphat-haltigem Inkubationsmedium

Dexamethason-o-phosphat mg/ml	gpc $\bar{x} \pm s$	Signifikanz	% Abnahme
Kontrolle	15.49 ± 2.69		
0.02	14.60 ± 1.31	$p < 0.10$	- 7.3
0.20	9.65 ± 1.21	$p < 0.01$	- 38.7

n = 10
Differenzen-t-Test

3.2.1.3. Antiarthrotika

3.2.1.3.1. Glykosaminoglykanpolysulfat (GAGPS)

GAGPS ist ein sulfatverestertes Glykosaminoglykan, das Uronsäure und Hexosamin alternierend enthält. Es liegt als geruchloses, weißes Pulver mit einem etwas bitteren Geschmack vor, ist in Wasser löslich, in Äthanol, Aceton, Äther oder Chloroform jedoch nur wenig löslich. Der pH-Wert der handelsüblichen 5 %igen Lösung (Arteparon ^{R} Amp.) liegt zwischen 6 und 7. Die physikalischen und biochemischen Daten sind nach IWATA und KANEKO (89):

gesamter Hexosamin-Gehalt	1,2 - 1,3 µM/mg
Uronsäure	1,0 - 1,2 µM/mg
Sulfatgehalt	3,9 - 4,1 µM/mg
Stickstoffgehalt	1,67 - 1,91 %
Molekulargewicht	5.000 - 15.000
Aschegehalt	42 %
Optische Aktivität	α_D^{20} = -9° bis -13°

In vielen klinischen Studien wird über die erfolgreiche Arthrosetherapie mit Arteparon ^{R} berichtet (Literaturübersicht siehe 199). Der Wirkungsmechanismus und der Mechanismus der Inkorporation von intraartikulär oder intramuskulär appliziertem GAGPS in den Knorpel ist jedoch noch nicht in allen Einzelheiten geklärt.

Die Meßdaten unserer Untersuchungen über den Einfluß von drei verschiedenen GAGPS-Konzentrationen auf die Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den Gelenkknorpel gesunder Hühner in vitro sind im Anhang in den Tabellen 3.2.1.3.1. A - C zusammengefaßt. Sie lassen folgendes Ergebnis erkennen: Verglichen mit den Kontrollwerten führt GAGPS in allen drei verwendeten Konzentrationen zu einer hochsignifikanten Erhöhung des Markierungsindex LI %, während die mittlere Kornzahl pro Zelle gpc und die Silberkorndichte über den Zellen SDC auf dem 0,1 %-Niveau signifikant abnehmen. Die Silberkorndichte über dem Interstitium SDI als Maß

für die strukturgebundene extrazelluläre Radioaktivität steigt in jeder Konzentration an, ist aber besonders ausgeprägt bei 0,01 mg/ml GAGPS. Die Abnahme des Verteilungsindex VI ist lediglich für die niedrigste GAGPS-Konzentration statistisch signifikant ($p < 0{,}001$; Tab. 16).

Tabelle 16: Einfluß unterschiedlicher GAGPS-Konzentrationen auf die Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in Knorpelgewebe (n = 32)

Konzentration GAGPS mg/ml	LI % $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	gpc $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	VI
-	74.01±1.004	9.46±3.142	24.79±1.957	1.06±0.056	23.39
0.01	83.68***±1.352	6.43***±2.237	17.56***±1.394	1.91**±0.062	9.19***
0.10	85.94***±1.258	5.84***±2.221	18.79***±1.129	1.14±0.049	16.48
1.00	86.26***±1.257	6.11***±1.706	16.23***±1.168	1.42***±0.044	11.43

Differenzen-t-Test: * = $p < 0{,}05$; ** = $p < 0{,}01$; *** = $p < 0{,}001$

In der Tangentialschicht ist die Erhöhung der extrazellulären Radioaktivität in jeder der von uns geprüften GAGPS-Konzentration besonders deutlich ausgeprägt, während in dem angrenzenden Bereich Z IIa (obere Intermediärzone) nur die geringste Konzentration (0,01 mg/ml GAGPS) eine Wirkung zeigt (Tab. 3.2.1.3.1. A-C und Abb. 31).

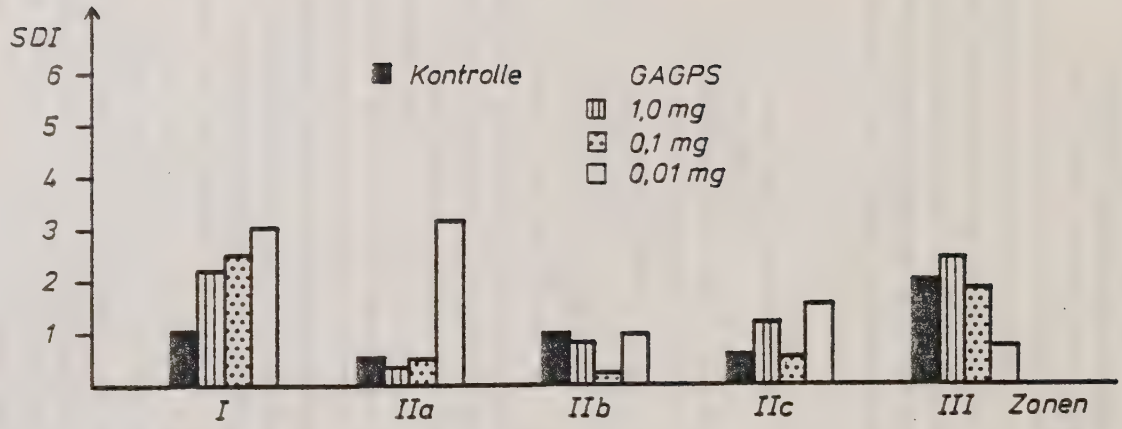


Abbildung 31: Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in das extrazelluläre Kompartiment des Gelenkknorpels von gesunden Hühnern unter dem Einfluß verschiedener GAGPS-Konzentrationen im Inkubationsmedium

3.2.1.3.2. DAK-16

Die nachfolgenden Untersuchungen mit dem Glykosaminoglykan-Peptid-Komplex DAK-16 sollten zeigen, ob durch den genuinen hochmolekularen Anteil eines Knorpel-Knochenmarkextraktes die biologische Aktivität der Chondrozyten in vitro stärker beeinflußt werden kann als durch niedermolekulare Glykosaminoglykanpolysulfat-Komponenten. Drei unterschiedliche DAK-16-Konzentrationen wurden an je acht Versuchstieren mit einer Kontrollserie verglichen (Tab. 3.2.1.3.2. A - C des Anhangs).
DAK-16 bewirkt in den geprüften Konzentrationen eine signifikante Erniedrigung des Markierungsindex LI %, der mittleren Silberkornzahl pro Zelle gpc und des Verteilungsindex VI. Eine Veränderung der Silberkorndichte über den Zellen SDC ist statistisch nicht nachweisbar, die enorme Zunahme der extrazellulären Radioaktivität SDI läßt sich hingegen mit weniger als 0,1 % Irrtumswahrscheinlichkeit absichern (Tab.17).

Tabelle 17: ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner nach Inkubation mit DAK-16 in vitro (n = 8)

Konzentration DAK-16 mg/ml	LI % $\bar{x} \pm s_{in}$	gpc $\bar{x} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	VI
-	82.57±1.298	10.88±4.189	26.60±2.832	0.81±0.034	32.84
	***	*		***	***
0.01	77.63±1.281	7.68±2.698	23.82±2.307	4.26±0.117	5.59
	***	*		***	***
0.10	70.63±1.047	9.15±2.955	26.47±1.958	1.98±0.139	13.37
	**	***		***	***
1.00	80.08±1.704	7.63±2.521	22.94±2.048	4.14±0.103	5.54

Differenzen-t-Test: * = $p<0,05$; ** = $p<0,01$; *** = $p<0,001$

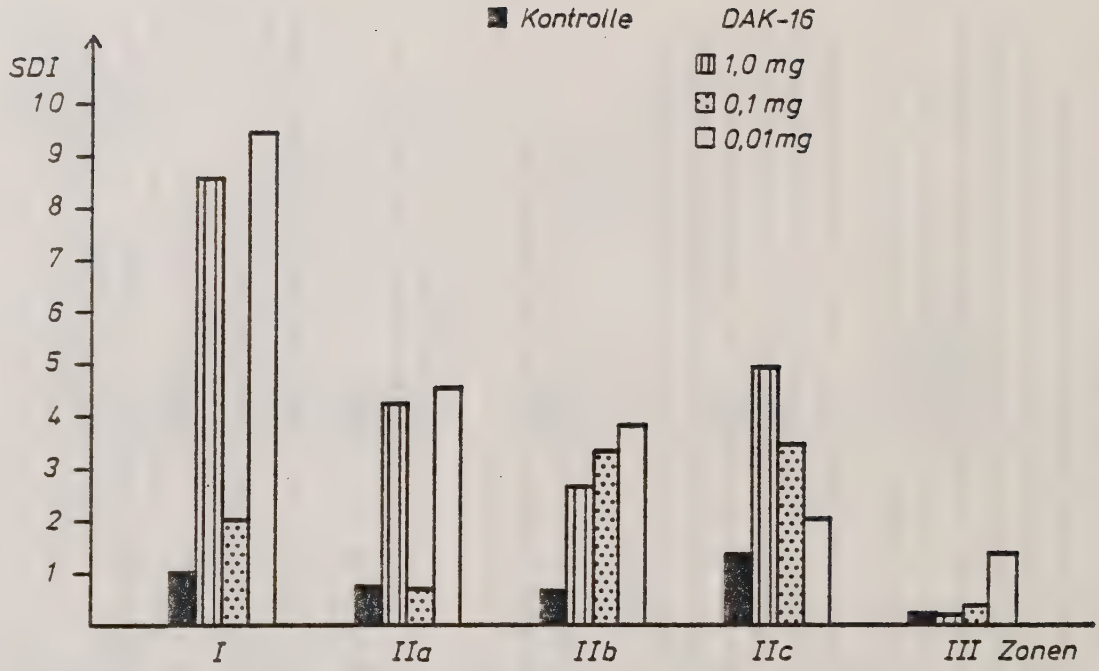


Abbildung 32: Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in das extrazelluläre Kompartiment des Gelenkknorpels von gesunden Hühnern unter dem Einfluß verschiedener DAK-16-Konzentrationen im Inkubationsmedium

Im Gegensatz zum niedermolekularen GAGPS beschränkt sich die stimulierende Wirkung des GAGPS-Peptid-Komplexes nicht nur auf die oberflächennahen Zonen des Gelenkknorpels, sondern umfaßt, wenn auch in einem etwas geringerem Umfang, in allen drei geprüften Konzentrationen gleichermaßen die gesamte Intermediärschicht (Abb. 32).

3.2.1.3.3. Pentosanpolysulfat

In Tabellen 3.2.1.3.3. A - C im Anhang sind die Ergebnisse unserer in vitro Versuche mit Pentosanpolysulfat dargestellt. Pentosanpolysulfat bewirkt konzentrationsunabhängig keine nachweisbare Veränderung in den Meßgrößen LI %, gpc und SDC. Die für die höchste Konzentration von 0,100 mg/ml überraschende hochsignifikante Zunahme der mittleren Silberkornzahl pro Chondrozyt muß kritisch betrachtet werden. Das Verhalten der Parameter SDI und VI ist in etwa mit den Befunden für GAGPS und DAK-16 vergleichbar: Insgesamt eine Erhöhung der extrazellulären Radioaktivität und eine deutliche Abnahme des Verteilungsindex VI (Tab. 18).

Tabelle 18: Zusammenfassende Darstellung der Resultate der In-vitro-Inkubation mit Pentosanpolysulfat (n = 32)

Konzentration Pentosan-PS mg/ml	LI % $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	gpc $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	VI
-	80.06±1.084	10.14±3.135	27.84±2.401	1.29±0.039	21.58
				***	***
0.001	83.18±1.083	7.22±2.546	27.89±1.704	5.66±0.221	4.93
					**
0.010	81.37±2.472	9.12±2.942	24.39±1.362	1.49±0.049	16.37
		***			***
0.100	76.69±1.961	14.62±3.738	31.65±2.184	1.66±0.126	19.07

Differenzen-t-Test: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

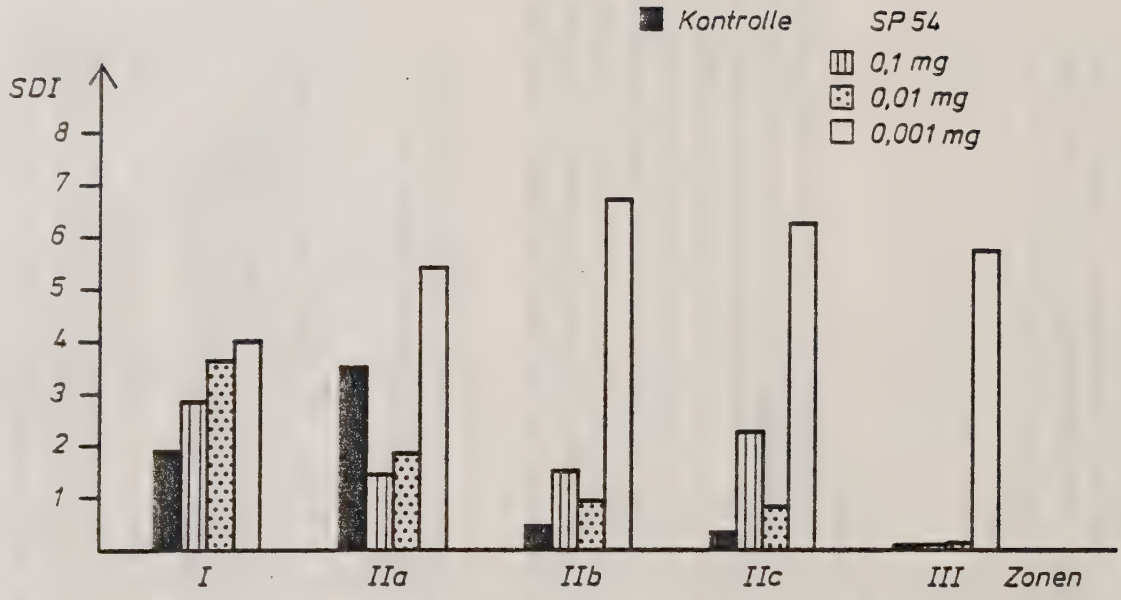


Abbildung 33: Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in das extrazelluläre Kompartiment des Gelenkknorpels von gesunden Hühnern unter dem Einfluß verschiedener Pentosanpolysulfat-Konzentrationen im Inkubationsmedium

Mit Blick auf die zonale Gliederung des Knorpelgewebes ergibt sich aus den Tab. 3.2.1.3.3. A-C des Anhangs folgendes Bild: Pentosanpolysulfat führt bei allen Konzentrationen in der Tangentialschicht zu einer Reduktion der Silberkorndichte über den Zellen SDC und zu einer Erhöhung in den Zonen Z II a und b. Eine deutliche Zunahme der extrazellulären Silberkorndichte kann nur für die niedrigste Konzentration in allen Knorpelzonen nachgewiesen werden: Sie steigt mit zunehmendem Abstand von der Knorpeloberfläche an, erreicht wie in Abb. 33 demonstriert, in Zone Z II b ihr Maximum und nimmt dann gegen Meßbereich Z III leicht ab.

GAGPS, DAK 16 und Pentosanpolysulfat bewirken übereinstimmend eine Zunahme der extrazellulären Radioaktivität. Die größte Steigerung wird mit den niedrigsten Konzentrationen gefunden. Es fällt auf, daß mit der jeweils mittleren der drei geprüften Konzentrationen immer die geringsten Steigerungsraten erzielt werden (Abb. 34).

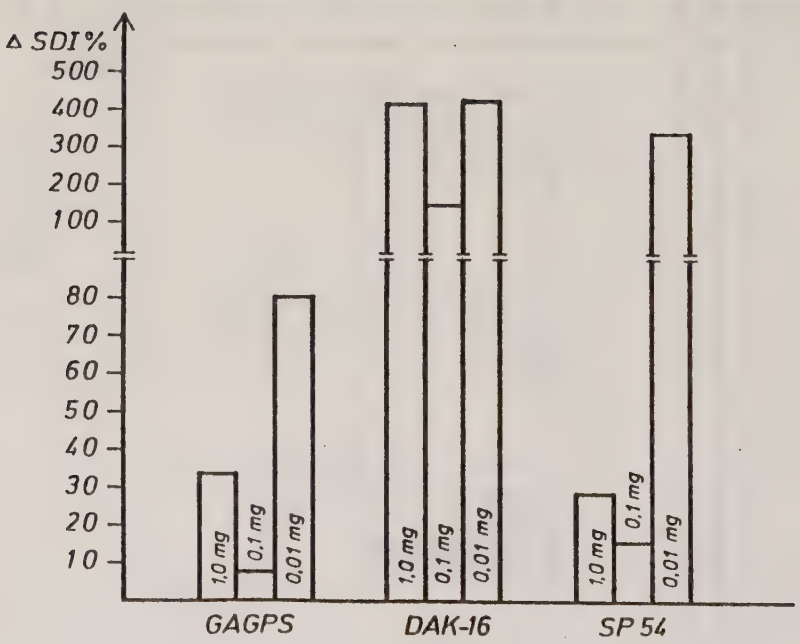


Abbildung 34 : Prozentuale Steigerung der extrazellulären Silberkorndichte nach GAGPS, DAK 16 und Pentosanpolysulfat (Sp^{54})

3.2.1.3.4. Oxaceprol

N-Acetyl-L-Hydroxyprolin (Oxaceprol, INN) ist das Acetylderivat des Kollagenbestandteiles Hydroxyprolin und wird aus biologischem Ausgangsmaterial gewonnen. Nach Aussagen des Herstellers stimuliert es die Kollagensynthese durch Steigerung des Prolintransportes, die zu einer Erhöhung des Prolinangebotes im intrazellulären Aminosäurepool führt (31).

Unsere In-vitro-Untersuchungen mit Oxaceprol sollten

a) den oben postulierten Wirkungsmechanismus anhand des Einbaus von ^{3}H-Prolin bestätigen und

b) über die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation feststellen, ob die Substanz zu einer allgemeinen Stimulation der biosynthetischen Aktivität der Knorpelzellen befähigt ist.

Die Meßdaten dieser Untersuchungen werden im Anhang in den Tabellen 3.2.1.3.4. A - C im Detail wiedergegeben.
Die wesentlichen Resultate sind in Tab. 19 zusammengefaßt

Tabelle 19: Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin und ^{3}H-Prolin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner unter dem Einfluß von Oxaceprol in vitro

Präkursor	Konz. Oxaceprol mg/ml	LI % $\bar{x} \pm s_{in}$	gpc $\bar{x} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	VI
^{3}H-Gluc.	-	96.75±0.359	10.04±3.169	24.94±1.983	7.72±0.363	3.23
^{3}H-Gluc.	0.010	96.65±0.896	9.50*±3.113	27.95*±2.327	6.65***±0.262	4.20***
^{3}H-Gluc.	0.100	96.66±1.039	7.44***±3.258	20.22**±1.652	2.67***±0.231	7.57***
^{3}H-Prol.	-	95.84±0.886	13.77±3.711	31.56±2.454	3.80±0.221	8.31
^{3}H-Prol.	0.010	94.59±1.766	14.26*±3.777	25.31***±1.891	4.67±0.389	5.42

Differenzen-t-Test: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

Auffallend ist bei diesen Untersuchungen, daß Oxaceprol in einer Konzentration von 0,010 mg/ml einen geringen stimulatorischen Effekt auf die ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme ausübt, während es - wie in Tab. 19 gezeigt wird - in der höhreren Konzentration (0,100 mg/ml) eine deutliche Hemmung der Präkursor-Inkorporation bewirkt.

Die Beeinflussung des ^{3}H-Prolin-Einbaus in den Knorpel deutet dagegen aufgrund der signifikanten Erhöhung der mittleren Kornzahl pro Zelle gpc und der Zunahme der extrazellulären Radioaktivität SDI bei gleichzeitig hochsignifikant reduzierter Silberkorndichte über den Chondrozyten SDC, auf stimulatorische Eigenschaften der Prüfsubstanz auf die Kollagensynthese hin und stützt den oben postulierten Wirkungsmechanismus.

Durch die Analyse der zonalen Verteilung des radioaktiven Prolin im Knorpel wird diese These weiter unterstützt: Während bei den Kontrolltieren überwiegend ein Konzentrationsgradient von der Tangentialzone zur Radiärschicht besteht (die Werte der Parameter gpc, SDC und SDI nehmen zur Radiärschicht hin ab), scheint der Einbau von markiertem Prolin unter Oxaceprol-Einfluß bevorzugt in den Knorpelzonen zu erfolgen, in denen die biosynthetisch aktiven Chondrozyten liegen. Wie aus den Tabellen 3.2.1.3.4. C des tabellarischen Anhangs ersichtlich ist, wird mit Ausnahme des Versuchstieres 2 bei allen Tieren eine deutliche Erhöhung der extrazellulären Radioaktivität SDI gesehen.

3.2.1.3.5. Oxaceprol - GAGPS - Kombination

Die weiteren Untersuchungen mit Oxaceprol hatten zum Ziel, zu klären, ob die gleichzeitige Stimulation von Glykosaminoglykan- und Kollagenbiosynthese die Aufnahme von Präkursoren begünstigt. Dazu prüften wir den Effekt einer Oxaceprol-GAGPS-Kombination auf die Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin und ^{3}H-Prolin. Die umfangreichen Meßdaten dieser Versuche, die im Detail den Tab. 3.2.1.3.5. A und B im Anhang zu entnehmen sind, wurden in Tab. 20 zusammengefaßt.

Die Tabelle 20 zeigt die Beeinflussung des ^{3}H-Glucosamin- und ^{3}H-Prolin-Einbaus durch Zugabe einer Oxaceprol-GAGPS-Konzentration zum Inkubationsmedium im Vergleich zu den Kontrollwerten und den Resultaten der alleinigen Inkubation des Gelenkknorpels mit Oxaceprol.
Die kombinierte Inkubation des Gelenkknorpels mit 0,010 mg/ml Oxaceprol und 0,010 mg/ml GAGPS führt zu einer hochsignifikanten Verringerung der Aufnahme radiomarkierten Glucosamins. Im Gegensatz dazu wird der Einbau von ^{3}H-Prolin verglichen mit der alleinigen Gabe von Oxaceprol überproportional in allen Knorpelzonen gesteigert ($p < 0,001$; Tab. 20 und Tab. 3.2.1.3.5. A).

Tabelle 20: Zusammenfassende Darstellung des Effektes einer Oxaceprol-GAGPS-Kombination auf die Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin und ^{3}H-Prolin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner

Präkursor	Konz. Oxaceprol mg/ml	Konz. GAGPS mg/ml	LI % $\bar{x} \pm s_{in}$	gpc $\bar{x} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	VI
^{3}H-Gluc.	-	-	96.75±0.359	10.04±3.169	24.94±1.982	7.72±0.363	3.23
^{3}H-Gluc.	0.010	-	96.65±0.896	9.50±3.113 *	27.95±2.327 *	6.65±0.262 **	4.20 ***
^{3}H-Gluc.	0.010	0.010	97.35±1.074	7.32±2.706 ***	20.88±2.019 ***	1.19±0.037 ***	17.54 ***
^{3}H-Prol.	-	-	95.84±0.886	13.77±3.711	31.56±2.454	3.80±0.221	8.31
^{3}H-Prol.	0.010	-	94.59±1.766	14.26±3.777 *	25.31±1.891 ***	4.67±0.389 ***	5.42 ***
^{3}H-Prol.	0.010	0.010	94.54±1.080	38.62±6.214 ***	54.07±3.729 ***	12.43±0.908 ***	4.35

Differenzen-t-Test: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

3.2.1.4. Untersuchungen zur Aufnahme und Lokalisation von ^{14}C-MJA und ^{3}H-GAGPS

3.2.1.4.1. Aufnahme von ^{14}C-MJA in den Gelenkknorpel in vitro

Nachdem wir in den Abb. 28, 29 und 30 gezeigt haben, daß MJA eine rasch einsetzende Hemmung der Aufnahme von ^{3}H-Prolin, ^{35}S-Sulfat und ^{3}H-Glucosamin in vitro bewirkt, sollte unter Verwendung von ^{14}C-markiertem MJA nachgewiesen werden, daß die Substanz in den Knorpel penetriert und sich in bestimmten Gewebekompartimenten anreichert.
Abb. 35 demonstriert die Aufnahme von radiomarkiertem Monojodacetat in das intakte Knorpelgewebe während einer 24-stündigen Inkubation mit 1 µCi ^{14}C-MJA/ml Inkubationsmedium.

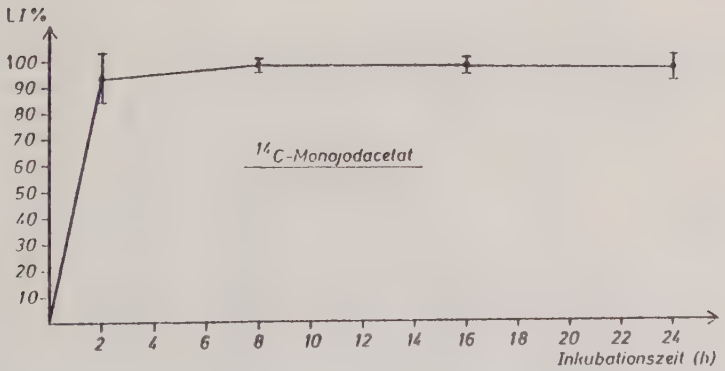


Abbildung 35: Inkorporation von ^{14}C-Monojodacetat in den tibiofemuralen Gelenkknorpel nach Inkubation mit 1 µCi/ml Inkubationsmedium (n = 5)

Die Aufnahme des Inhibitors erfolgt sehr rasch, wie anhand des Markierungsindex LI % gezeigt wird. Nach zwei Stunden sind 93,18 ± 9,645 % aller Zellen markiert, der höchste Wert wird mit 98,00 ± 2,828 % nach acht Stunden erreicht und bleibt während der weiteren Versuchszeit konstant (Abb. 35).
Die Silberkorndichte über den Zellen (5,31 ± 1,182 Körner/100µm²) ist gegenüber der Silberkorndichte über dem Extrazellulärraum (2,47 ± 0,721 Körner/100µm²) deutlich erhöht und läßt auf eine hohe Affinität des Monojodacetats zum zellulären Kompartiment schließen.

3.2.1.4.2. Aufnahme von ^{3}H-GAGPS in den Gelenkknorpel in vitro

In einer weiteren Versuchsreihe war die Aufnahme radioaktiven GAGPS (Arteparon^R) Gegenstand unserer Untersuchungen. Nach einer 3-stündigen Inkubation des unversehrten Gelenkknorpels gesunder Versuchstiere fanden wir das in Abb. 36 dargestellte intrachondrale Verteilungsmuster.

Tabelle 21: Zusammenfassende Darstellung der In-vitro-Inkorporation von ^{3}H-Arteparon in den Gelenkknorpel nach Inkubation mit 1 µCi/ml (n = 5)

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µm² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µm² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.57±1.386	5.08±1.631	26.52±1.442	2.74±0.102	9.68
Z II a	81.86±2.220	10.58±3.069	25.27±0.897	3.56±0.120	7.10
Z II b	79.31±1.462	10.20±3.712	27.18±1.816	2.52±0.038	10.79
Z II c	83.27±1.238	13.72±4.124	34.18±1.983	1.67±0.038	20.47
Z III	88.31±1.687	7.18±2.043	12.50±0.789	0.49±0.022	25.51
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	85.06±1.635	9.35±3.067	25.13±1.465	2.20±0.075	11.42

GAGPS vermag trotz seines hohen Molekulargewichtes problemlos in den Gelenkknorpel einzudringen. Anhand der Schwärzung der Photoemulsion kann die Lokalisation des ^{3}H-Arteparon bis in die tiefen Knorpelzonen verfolgt werden. Die höchsten Einbauraten finden wir in der Intermediärschicht, d.h. dort, wo die biosynthetisch aktiven Chondrozyten zu finden sind. Obwohl innerhalb und außerhalb der Zellen eine Schwärzung gefunden wurde, übersteigt die intrazelluläre Radioaktivität die extrazelluläre um ein Vielfaches. Es ist bemerkenswert, daß die Silberkorndichte über dem Interstitium in den Zonen Z II c und Z III die niedrigsten Werte erreicht (Tab. 21). Da in diesen Knorpelschichten die Chondrozyten durch blasige Degeneration und eine Synthese wahrscheinlich minderwertiger Glykosaminoglykane gekennzeichnet sind, könnte dies bedeuten, daß die extrazelluläre Bindung des Arteparon an eine spezifische Matrix-Komponente erfolgt, zu deren Bildung die Knorpelzellen in diesen Zonen nicht mehr befähigt sind.

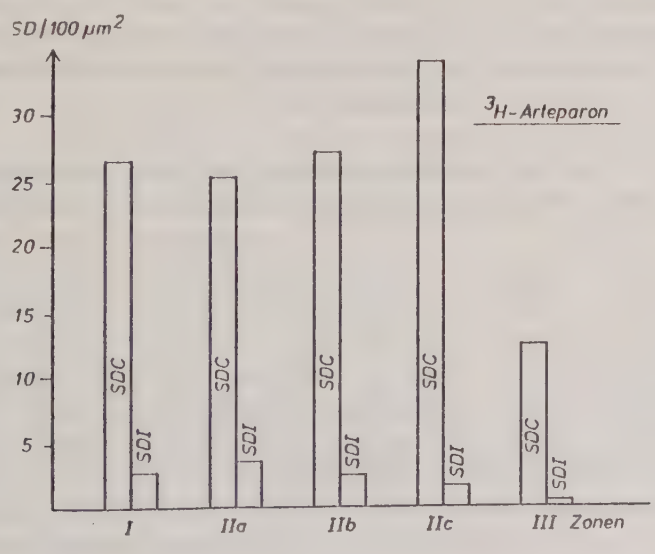


Abbildung 36: Graphische Darstellung der Verteilung von ^{3}H-GAGPS im tibiofemuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner (^{3}H-Arteparon = ^{3}H-GAGPS)

3.2.2. HUMANES KNORPELGEWEBE

Werden tierexperimentelle In-vitro Untersuchungen über Arzneimittel mit der Absicht durchgeführt, die Erkenntnisse humanpharmakologisch zu deuten, so stellt sich in erster Linie das Problem der Übertragbarkeit der Resultate auf die Verhältnisse und Gegebenheiten des menschlichen Gewebes. In einer Versuchsreihe mit steroidalen und nichtsteroidalen Antiphlogistika prüften wir die Reaktion humanen Knorpelgewebes, das während einer Operation am offenen Kniegelenk entnommen worden war, auf die Inkubation mit entweder diesen Substanzen allein oder in Kombination mit einem Antiarthrotikum.

3.2.2.1. NSAID

3.2.2.1.1. Diclofenac-Na

Die Auswirkungen zweier Diclofenac-Konzentrationen auf die Inkorporation von radioaktivem Glucosamin in menschliches Knorpelgewebe sind in Tabelle 22 zusammengefaßt.

Tabelle 22: Einfluß von Diclofenac-Na auf die In-vitro-Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in humanes Knorpelgewebe (n=18)

Konz. Diclofenac-Na mg/ml	LI % $\bar{x} \pm s_{in}$	gpc $\bar{x} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	VI
-	93.75±1.925	8.47±2.872	14.73±1.912	1.95±0.097	7.59
0.025	94.11±2.056	14.00**±3.528	26.06***±2.953	3.24***±0.059	8.04
0.250	97.25±0.903	15.56***±4.482	27.27***±3.564	3.40***±0.181	8.02

Differenzen-t-Test: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

In beiden untersuchten Konzentrationen führte Diclofenac-Na zu einer signifikanten bis hochsignifikanten Erhöhung der intra- und extrazellulären Radioaktivität wie aufgrund des Verhaltens der mittleren Kornzahl pro Zelle, der Silberkorndichten über den Zellen und der Matrix vermutet werden darf. Eine Beeinflussung der interkompartimentellen Verteilung des Glucosamin war nicht feststellbar.

3.2.2.1.2. Orgotein

Mit Orgotein wurde ein neues therapeutisches Prinzip zur Behandlung entzündlicher Prozesse verwirklicht, das auf der Annahme beruht, daß alle synthetischen Antiphlogistika bestimmte toxische Effekte ausüben, die bei einer natürlich vorkommenden physiologischen Substanz nicht gesehen werden. Orgotein ist die INN-Bezeichnung für Cu-Zn-Superoxiddismutase (SOD). Unter physiologischen Bedingungen ist Superoxiddismutase intrazellulär vorhanden, aber nur in Spuren in extrazellulären Flüssigkeiten oder entzündlichen Exsudaten. Da zelltoxische Superoxidradikale während des inflammatorischen Prozesses durch polymorphe Phagozytose und innerhalb der Prostaglandin-Kaskade entstehen, könnte Orgotein in entzündeten Geweben unter Ersatz der fehlenden Abwehrmechanismen als Fänger für O_2^--Radikale in statu nascendi wirken. Untersuchungen über den Einfluß von Orgotein auf Knorpelgewebe sind uns bisher nicht bekannt.

Wie aus Tabelle 23 deutlich zu erkennen ist, übte eine Konzentration von 0,200 mg/ml keinen merklichen Effekt auf die Inkorporation und Verteilung von ^{3}H-Glucosamin aus. Der Zusatz von 1,000 mg/ml Orgotein bewirkte hingegen eine statistisch hochsignifikante Erhöhung der zellulären Silberkorndichte und eine signifikante Erniedrigung der Silberkorndichte über den interstitiellen Räumen. Der prozentuale Anteil der markierten Chondrozyten (LI %) wurde durch die Orgotein-Zugabe zum Inkubationsmedium nicht verändert.

Tabelle 23: Zusammenfassende Darstellung des Einflusses von Orgotein auf die in-vitro-Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in Knorpelgewebe humaner Provenienz (n = 21)

Konz. Orgotein mg/ml	LI % $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	gpc $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	VI
-	95.00±1.332	10.84±4.294	22.87±1.201	1.88±0.061	12.16
0.200	97.14±3.526	9.83±3.174	19.91*±0.676	1.68*±0.067	11.85
1.000	98.25±1.636	22.33***±5.021	35.78***±2.097	1.52**±0.058	23.54***

Differenzen-t-Test: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

3.2.2.1.3. Orgotein-GAGPS-Kombination

Die Resultate für die Orgotein-GAGPS-Kombination sind in Tabelle 24 zusammengefaßt.

Tabelle 24: ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme in menschlichen Gelenkknorpel nach In-vitro-Inkubation mit einer Orgotein-GAGPS-Kombination (n = 21)

Konz. Orgotein mg/ml	Konz. GAGPS mg/ml	LI % $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	gpc $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	VI
-	-	95.00±1.332	10.84±4.294	22.87±1.201	1.88±0.061	12.16
0.200	0.010	99.05±1.688	22.65***±4.857***	36.72***±1.886***	2.87***±0.020***	12.79
1.000	0.010	97.95±1.586	23.01±4.773	35.98±2.011	2.74±0.059	13.13

Differenzen-t-Test: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

Unter dem Einfluß der kombinierten Inkubation mit Orgotein und GAGPS erfahren in allen getesteten Konzentrationen die mittlere Silberkornzahl pro Chondrozyt gpc, die Korndichte über den Zellen SDC und die Silberkorndichte über der Matrix SDI eine hochsignifikante ($p < 0{,}001$) Erhöhung. Wie aus den ermittelten Werten für den Verteilungsindex VI zu ersehen ist, ändert sich die Distribution hingegen nicht (Tab. 24).

3.2.2.2. Glukokortikoide

3.2.2.2.1. Dexamethason-o-phosphat

Ähnlich wie im Tierversuch kommt es unter der Einwirkung von Dexamethason-o-phosphat zu einer Reduzierung der ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme in den humanen Gelenkknorpel. Die zelluläre Silberkorndichte nimmt um 24 %, die interstitielle Silberkorndichte um 35,2 % ab (Tab. 25). Zusätzlich ist eine signifikante Erhöhung des Verteilungsindex erkennbar.

Tabelle 25: Einfluß von Dexamethason-o-phosphat auf die In-vitro-Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in humanes Knorpelgewebe (n = 30)

Konz. Dexamethason mg/ml	LI % $\bar{x} \pm s_{in}$	gpc $\bar{x} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	VI
-	93.33±1.333	7.80±1.375	12.63±1.149	1.62±0.086	7.79
0.020	91.67±1.173	7.50±2.466	9.60**±0.540	1.05***±0.042	9.11**

Differenzen-t-Test: * = $p < 0{,}05$; ** = $p < 0{,}01$; *** = $p < 0{,}001$

(Die Konzentrationsangaben beziehen sich auf Dexamethason-o-phosphat)

3.2.2.2.2. Dexamethason-GAGPS-Kombination

Die Meßdaten dieser Untersuchung über die Einflüsse der kombinierten Inkubation menschlicher Knorpelproben mit Dexamethason und GAGPS sind in der Tabelle 26 zusammengefaßt. Sie lassen folgendes Ergebnis erkennen: Während bei alleiniger Gabe von Dexamethason eine deutliche Abnahme der Parameter SDC und SDI bei gleichzeitiger Erhöhung des Verteilungsindex VI zu verzeichnen ist, zeigt die Kombination eine schwach signifikante Abnahme der extrazellulären Silberkorndichte (-9,3%) und einen signifikanten Wertzuwachs des Verteilungsindex VI (+1,23).

Tabelle 26: Zusammenfassende Darstellung der ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in menschlichen Kniegelenkknorpel unter dem Einfluß von Dexamethason-o-phosphat und GAGPS (n = 30)

Konz. Dexamethason mg/ml	Konz. GAGPS mg/ml	LI % $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	gpc $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	VI
-	-	93.33±1.333	7.80±1.375	12.63±1.149	1.62±0.086	7.79
0.020	-	91.67±1.173	7.50±2.466	9.60**±0.540	1.05***±0.042	9.11**
0.020	0.010	93.98±1.141	7.69±1.029	13.26±0.621	1.47*±0.073	9.02**

Differenzen-t-Test: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

(Die Konzentrationsangaben beziehen sich auf Dexamethason-o-phosphat)

3.3. IN-VITRO-UNTERSUCHUNGEN NACH IN-VIVO-APPLIKATION

3.3.1. KURZZEIT-VERSUCHE

3.3.1.1. NSAID

3.3.1.1.1. Natrium-Salicylat (Na-Salicylat)

In unseren In-vitro-Studien konnten wir zeigen, daß Natrium-Salicylat konzentrationsabhängig zu einer deutlichen Verminderung (bis 61,43 %) der Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den Gelenkknorpel gesunder Hühner führt. Die dazu erforderlichen Salicylatkonzentrationen bewegten sich in einem Konzentrationsbereich von 10^{-3} bis 10^{-5} Mol, der unter der Therapie rheumatischer Affektionen mit Salicylaten durchaus in der Synovialflüssigkeit erreicht wird (70). In einem Kurzzeit-Experiment sollte nachgewiesen werden, ob die beobachtete Hemmwirkung auch nach intraartikulärer Injektion von Na-Salicylat eintritt, und somit bereits eine kurzfristige initiale Schädigung des Gelenkknorpels eine gestörte anabole Stoffwechselsituation zur Folge hat.
Drei gesunde Versuchstiere erhielten zu Versuchsbeginn an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 20 mg Na-Salicylat in das linke Kniegelenk injiziert. Nach vier Tagen wurden die Tiere getötet und der autoradiographischen Untersuchung mit nachfolgendem Rechts-Links-Vergleich zugeführt.
Die Meßdaten sind im Anhang in den Tabellen 3.3.1.1.1. detailliert wiedergegeben.
Wie aus der zusammenfassenden Darstellung in Tabelle 27 deutlich zu erkennen ist, bewirkt die intraartikuläre Gabe von Natrium-Salicylat mit Ausnahme des Markierungsindex LI % bei allen anderen geprüften Parametern hochsignifikante Differenzen zu den Kontrollwerten ($p < 0{,}001$). Die Resultate deuten auf eine erhöhte intrazelluläre Präkursoraufnahme hin.

Tabelle 27 : ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Versuchstiere nach zwei intraartikulären Injektionen von je 20 mg Natrium-Salicylat in die linken Kniegelenke an aufeinanderfolgenden Tagen (n = 3)

	LI % $\bar{x} \pm s_{in}$	gpc $\bar{x} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	VI
linkes Gelenk	90.88±3.784	11.05±2.913	19.03±1.327	4.20±0.267	4.53
	*	***	***	***	***
rechtes Gelenk	94.64±2.579	9.13±2.816	16.99±1.512	4.82±0.226	3.52
relative Differenz	- 3.97 %	+ 21.00 %	+ 12.61 %	- 12.86 %	+ 28.69 %

Differenzen-t-Test: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

Aus Abb. 37 ist ersichtlich, daß hiervon die Knorpelzonen Z I und Z II b/c betroffen sind.

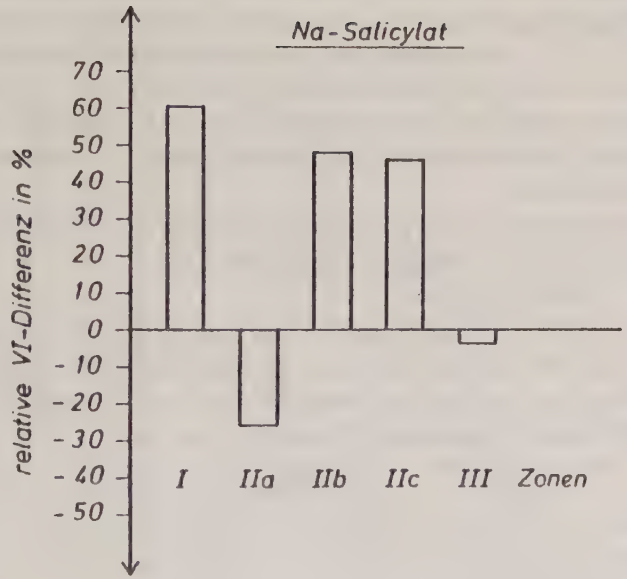


Abbildung 37: Änderung des Verteilungsmusters der inkorporierten Radioaktivität im Gelenkknorpel nach intraartikulärer Gabe von 2 x 20 mg Natrium-Salicylat in die linken Kniegelenke an aufeinanderfolgenden Tagen; dargestellt als relative Differenz der Verteilungsindices im Rechts-Links-Vergleich.

3.3.1.1.2. Diclofenac-Na

Unter den in dieser Arbeit untersuchten nichtsteroidalen Antiphlogistika scheint Diclofenac-Na eine Sonderstellung bezüglich seines Einflusses auf den Glykosaminoglykan-Stoffwechsel einzunehmen (117). MAIER UND WILHELMI (129,130) schreiben der Substanz sogar eine protektive Wirkung am Modell der Spontanarthrose des C-57-black-Mäusestammes zu. Unsere autoradiographischen Meßdaten (Tabellen 3.3.1.1.2., im Anhang) mit dem Phenylessigsäurederivat Diclofenac-Na nach zwei intraartikulären Gaben von je 1 mg im Abstand von drei Tagen und anschließender In-vitro-Inkubation mit ^{3}H-Glucosamin unterstreichen die beschriebene exponierte Stellung der Substanz.
Diclofenac-Na weist als einzige der getesteten Prüfsubstanzen eine Erhöhung aller fünf Meßgrößen auf (Tab. 28).

Tabelle 28: Einfluß von Diclofenac-Na auf die In-vitro-Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den Gelenkknorpel nach In-vivo-Applikation von zweimal 1 mg in die linken Kniegelenke gesunder Versuchstiere (n=3)

	LI % $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	gpc $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	VI
rechte Gelenke	78.20±1.498	1.91±1.207	4.67±0.382	0.75±0.028	6.23
	***	***	***		***
linke Gelenke	85.98±1.569	4.22±1.907	10.87±0.804	0.76±0.042	14.30
relative Differenz	+9,95 %	+120,94%	+132.83%	1.78%	129.58%

Differenzen-t-Test: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

Die Zunahme der intrazellulären Radioaktivität ist mit 402,00 % besonders deutlich in der Tangentialzone, fällt in der angrenzenden Zone Z II a der Intermediärschicht auf 135,47 % ab und erreicht im Meßbereich Z II b mit 236,02 % einen erneuten Höhepunkt.

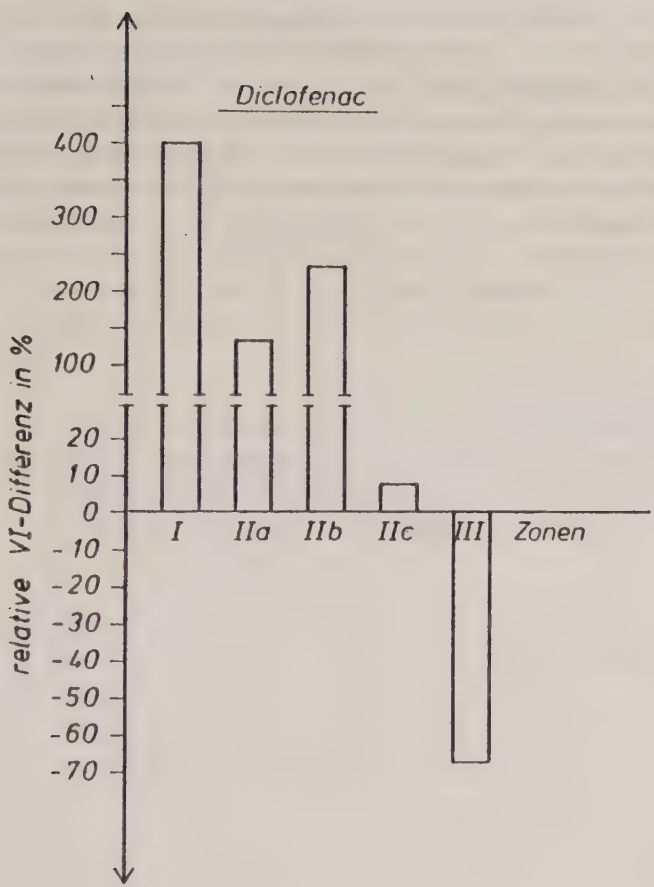


Abbildung 38: Einfluß von Diclofenac-Na auf die zonale Verteilung der inkorporierten Radioaktivität nach zwei intraartikulären Injektionen von je 1 mg im Abstand von drei Tagen (n=3); dargestellt als relative Differenz der Verteilungsindices im Rechts-Links-Vergleich.

Während in der unteren Zone der Intermediärschicht (Z II c) mit 8,13 % noch eine leichte Erhöhung der intrazellulären Radioaktivität festzustellen ist, finden wir in der Radiärschicht (Z III) eine Zunahme der Menge des extrazellulär gebundenen Präkursors. Dies wird durch die in Abb. 38 gezeigte relative Verteilungindex-Differenz von 67,97 % in der Knorpelzone Z III deutlich.

3.3.1.1.3. Indometacin

Die unter den gleichen experimentellen Bedingungen ermittelten Befunde mit Indometacin bilden einen starken Kontrast zu den Resultaten aus den Versuchen mit Diclofenac-Na. Die autoradiographischen Meßwerte sind detailliert in der Tab. 3.3.1.1.3. im Anhang wiedergegeben. Der Anstieg der Silberkorndichte über der Matrix um 176,31 % und die Verminderung des Verteilungsindex VI um 61,02 %, zeigen eine starke Erhöhung ($p < 0{,}001$) des Anteils der extrazellulär gebundenen radioaktiven Substanz an (Tab. 29).

Tabelle 29: In-vitro-Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den Gelenkknorpel gesunder Versuchstiere nach zwei Injektionen von 1 mg Indometacin im Abstand von drei Tagen in die linken Kniegelenke (n = 3)

	LI % $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	gpc $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	VI
rechte Gelenke	78.03±1.348	11.46±3.499	31.28±2.106	3.25±0.114 ***	9.62 ***
linke Gelenke	76.51±1.821	12.71±4.076	33.67±2.172	8.98±0.311	3.75
relative Differenz	- 1.95 %	+ 10.91 %	+ 7.64 %	+ 176.31%	-61.02%

Differenzen-t-Test: * = $p < 0{,}05$; ** = $p < 0{,}01$; *** = $p < 0{,}001$

Die zonale Analyse der extrazellulären Anreicherung ergibt eine starke Zunahme von der Knorpeloberfläche (31,49 % in Zone Z I) zum subchondralen Knochen hin (81,60 % in Zone Z III), wie in Abb. 39 anhand der relativen Differenzen der Verteilungsindices dargestellt wird.

Der Maximalwert wird in den unteren Bereichen der Intermediärschicht (Z II c) erreicht.

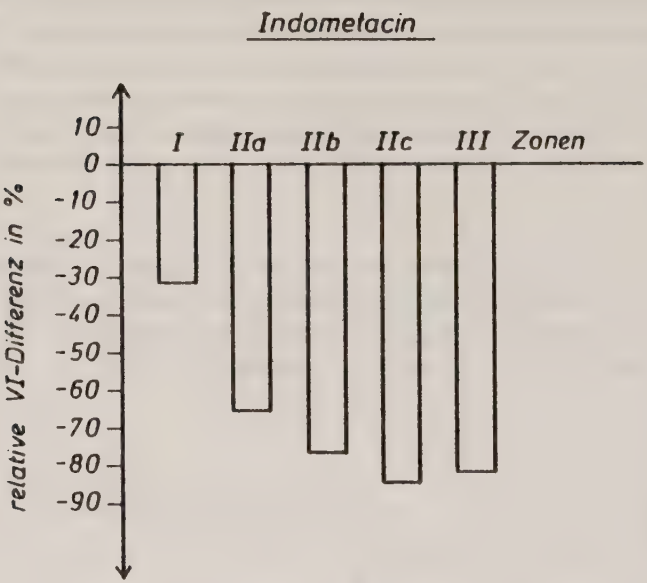


Abbildung 39: Verteilung der inkorporierten Radioaktivität im Gelenkknorpel gesunder Hühner nach zwei intraartikulären Injektionen von 1 mg Indometacin im Abstand von drei Tagen in die linken Kniegelenke; dargestellt als relative Differenz der Verteilungsindices im Rechts-Links-Vergleich (n=3)

Die Graphik in Abb. 40 zeigt zusammenfassend ein differenziertes Bild der Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den Kniegelenkknorpel unter dem Einfluß intraartikulärer Injektionen der drei untersuchten nichtsteriodalen Antiphlogistika.

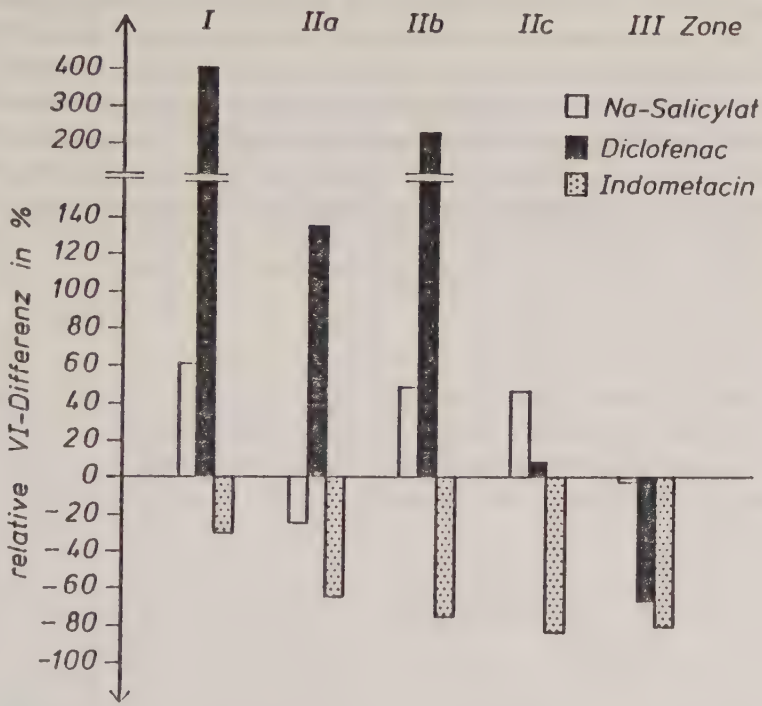


Abbildung 40: Zusammenfassende Darstellung des Verhaltens der inkorporierten Radioaktivität im Kniegelenkknorpel gesunder Hühner nach intraartikulärer Injektion von Natrium-Salicylat ☐, Diclofenac-Na ■ und Indometacin ⁝⁝ im Kurzzeit-Experiment. Wiedergegeben sind die relativen Differenzen der Verteilungsindices zwischen unbehandeltem und behandeltem Kniegelenk.

Während Natrium-Salicylat und in ganz besonderem Maße Diclofenac-Na zu einer Erhöhung der intrazellulären Radioaktivität führen (positive relative VI-Differenz) kommt es unter dem Einfluß von Indometacin zu einer starken Zunahme der extrazellulären Radioaktivität (negative relative VI-Differenz). Das Ausmaß der Beeinflussung ist je nach Substanz in den einzelnen Knorpelzonen unterschiedlich: Natrium-Salicylat und Diclofenac-Na zeigen ihre Wirkung überwiegend in der Tangential- und Intermediärschicht, der Indometacin-Einfluß hingegen steigt von der Knorpeloberfläche bis zum subchondralen Gewebe von Zone zu Zone deutlich an. Übereinstimmend führen alle drei Prüfsubstanzen in der Radiärschicht zu einer Zunahme der extrazellulär gebundenen Radioaktivität in der Reihenfolge Natrium-Salicylat $<$ Diclofenac-Na $<$ Indometacin.

3.3.1.2. Glukokortikoide

3.3.1.2.1. Triamcinolonhexaacetonid

Mit den Indometacin-Ergebnissen vergleichbare Befunde zeigen die Versuchstiere, die im Kurzzeit-Experiment mit zwei intraartikulären Injektionen von 0,5 mg Triamcinolonhexaacetonid im Abstand von drei Tagen behandelt wurden (Tabellen 3.3.1.2.1., im Anhang). Nach dreistündiger In-vitro Inkubation mit ^{3}H-Glucosamin läßt sich mit Hilfe autoradiographischer Methoden feststellen: Neben einer moderaten Zunahme der mittleren Silberkornzahl pro Zelle gpc (13,60 %) und der Silberkorndichte über den Zellen SDC (21,97 %) imponiert die hochsignifikante ($p < 0,001$) Erhöhung der extrazellulären Radioaktivität (SDI) um 226,58 % und die Verminderung des Verteilungsindex VI um 62,85 % (Tab. 30).

Tabelle 30 : In-vitro-Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den Gelenkknorpel gesunder Versuchstiere nach zwei Injektionen von 0,5 mg Triamcinolonhexaacetonid im Abstand von drei Tagen in die linken Kniegelenke (n = 3)

	LI % $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	gpc $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	VI
rechte Gelenke	82.49±1.677	6.25±2.566	16.50±1.021	2.22±0.098	7.43
			*	***	***
linke Gelenke	84.15±1.560	7.10±2.629	19.98±1.395	7.25±0.224	2.76
relative Differenz	+ 2.01 %	+ 13.60 %	+ 21.09 %	+ 226,58 %	-62.85 %

Differenzen-t-Test: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

Auch die zonale Analyse des Verteilungsmusters der chondralen Radioaktivität zeigt Parallelen zu den Resultaten mit Indometacin. Im Rechts-Links-Vergleich wird deutlich, daß insbesondere die tiefen Zonen der Intermediärschicht Z II b und Z II c von der Abnahme des Verteilungsindex nach Triamcinolonbehandlung betroffen sind (Abb. 41).

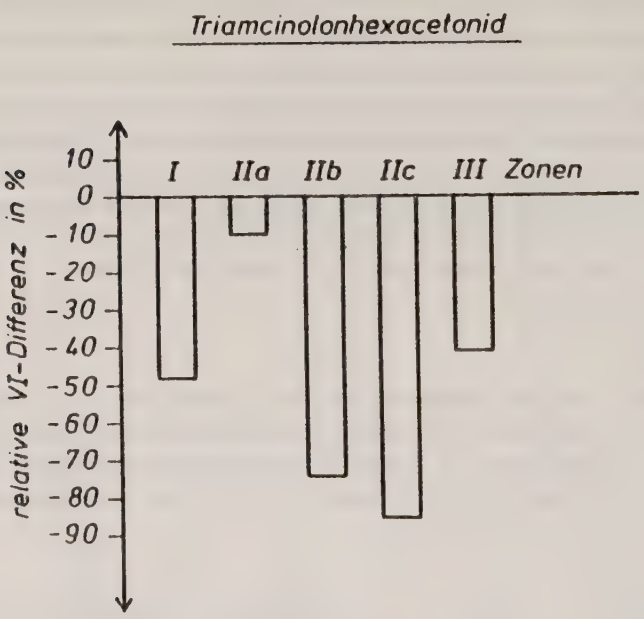


Abbildung 41 : Einfluß von Triamcinolon auf die zonale Verteilung der inkorporierten Radioaktivität nach zwei intraartikulären Injektionen von je 0,5 mg im Abstand von drei Tagen (n = 3); dargestellt als relative Differenz der Verteilungsindices im Rechts-Links-Vergleich

Die Resultate belegen in deutlicher Weise eine hochsignifikante Zunahme des ^{3}H-Glucosamin-Einbaus in die interzelluläre Matrix unter dem Einfluß von Triamcinolonhexaacetonid.

3.3.1.3. Antiarthrotika

Der weitere Verlauf unserer Arbeit konzentriert sich auf die Prüfung eventuell vorhandener stimulatorischer Effekte von Antiarthrotika auf die anabolen Stoffwechselprozesse des Gelenkknorpels. Untersucht wurden die Substanzen Glykosaminoglykanpolysulfat (GAGPS), DAK-16 und Oxaceprol im Kurzzeit-Experiment.
Die gesunden Versuchstiere erhielten dazu zwei intraartikuläre Injektionen der Prüfstoffe im Abstand von 3 Tagen. Anschließend wurde die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation nach In-vitro-Inkubation autoradiographisch bestimmt.

3.3.1.3.1. Glykosaminoglykanpolysulfat (GAGPS)

Die Meßdaten dieser In-vivo-Untersuchung sind ausführlich in den Tabellen 3.3.1.3.1. im Anhang wiedergegeben.
Intraartikulär appliziertes GAGPS bewirkt eine hochsignifikante Erhöhung sowohl der Silberkorndichte über den Zellen SDC als auch der Silberkorndichte über der Matrix SDI. Der Verteilungsindex nimmt um 55,44 % ab und verdeutlicht die Anreicherung der inkorporierten radioaktiven Substanz im Extrazellulärraum (Tab. 31).

Tabelle 31 : Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner nach zwei intraartikulären Injektionen von je 0,10 mg GAGPS im Abstand von drei Tagen in die linken Kniegelenke (n = 3)

	LI % $\bar{x} \pm s_{in}$	gpc $\bar{x} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	VI
rechte Gelenke	82.51±2.859	5.86±2.262	15.96±1.591	4.04±0.184	3.95
	***		***	***	***
linke Gelenke	86.14±2.458	7.57±2.765	20.55±1.779	11.65±0.532	1.76
relative Differenz	+ 4.40 %	+ 29.18 %	+ 28.76 %	+ 188.37 %	-55.44%

Differenzen-t-Test: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

Wie aus der Abb. 42 hervorgeht, zeigt ein Vergleich der Verteilungsindices in linken und rechten Gelenken, daß der Einbau von ^{3}H-Glucosamin in Matrix-Komponenten bereits in der Tangentialzone sehr ausgeprägt ist und dann zur Radiärschicht hin noch weiter ansteigt.

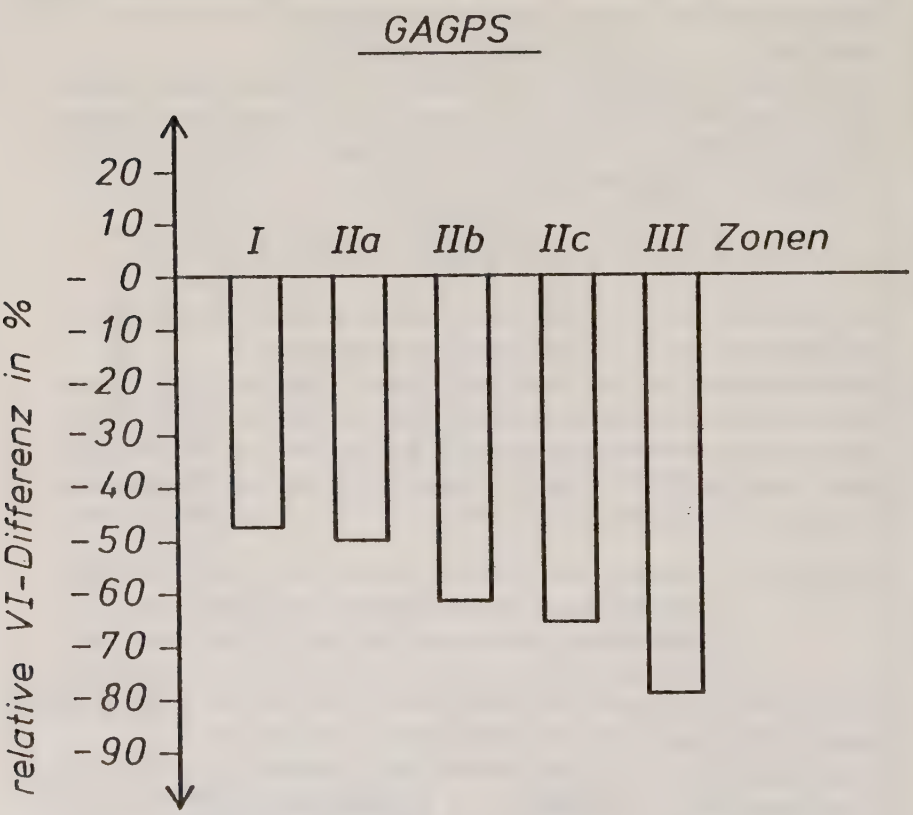


Abbildung 42: Beeinflussung der Verteilung von ^{3}H-Glucosamin im Gelenkknorpel nach intraartikulärer Gabe von GAGPS; dargestellt als relative Differenz der Verteilungsindices im Rechts-Links-Vergleich

3.3.1.3.2. DAK-16

Die mit DAK-16 in vivo behandelten Gelenke zeigen vergleichbare Befunde wie nach GAGPS-Injektion (Tab. 3.3.1.3.2., Anhang). Die Tab. 32 verdeutlicht, daß die Zunahme der intrazellulären Radioaktivität aber größer ist als nach intraartikulären Injektionen von GAGPS.

Tabelle 32 : Einfluß von DAK-16 auf die Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Versuchstiere nach zwei intraartikulären Injektionen von je 0,10 mg in die linken Kniegelenke im Abstand von drei Tagen (n = 3)

	LI % $\bar{x} \pm s_{in}$	gpc $\bar{x} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	VI
rechte Gelenke	94.73±2.521	10.22±3.374	28.67±2.209	10.69±0.584	2.68
linke Gelenke	* 97.94±1.245	*** 15.82±4.928	*** 38.41±2.903	*** 27.00±1.309	*** 1.42
relative Differenz	+ 3.39 %	+ 54.79 %	+ 33.97 %	+ 152.57 %	-47.01%

Differenzen-t-Test: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

Ingesamt lassen unsere Meßergebnisse folgendes Resultat erkennen: Der Glykosaminoglykan-Peptid-Komplex DAK-16 bewirkt eine hochsignifikante Erhöhung des intra- und extrazellulären ^{3}H-Glucosamino-Einbaus ($p < 0,001$). Die Zunahme der matrixgebundenen Radioaktivität übertrifft die der intrazellulären aber um ein vielfaches und ist - wie aus Abb. 43 ersichtlich - in der Radiärschicht (Z III) besonders deutlich erkennbar.

In der Tangential- und Intermediärschicht (Z I und Z II) werden eher mäßige Steigerungsraten gefunden, wie aus den Differenzen der Verteilungsindices ersichtlich ist (Abb. 43).

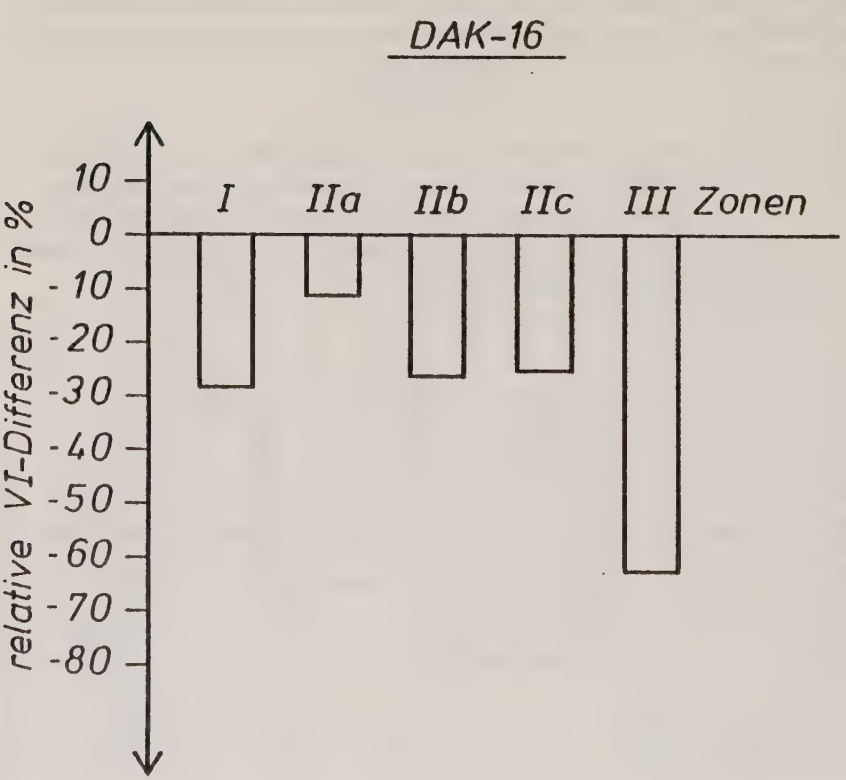


Abbildung 43: Änderung des Verteilungsmusters von ^{3}H-Glucosamin im Gelenkknorpel gesunder Versuchstiere nach In-vivo-Applikation von zweimal 0,1 mg DAK-16 in die linken Kniegelenke im Abstand von drei Tagen; dargestellt als relative Differenz der Verteilungsindices im Rechts-Links-Vergleich (n=3).

3.3.1.3.3. Oxaceprol

Die Untersuchungen mit Oxaceprol wurden an zwei verschiedenen Tierkollektiven mit unterschiedlichen Dosierungen durchgeführt. Die Substanz übt auf die untersuchten Parameter sehr differenzierte Einflüsse aus (Tab. 3.3.1.3.3. A und B, Anhang).
Die zweimalige intraartikuläre Gabe von 0,100 mg Oxaceprol führt zu einer signifikanten Erhöhung der Silberkorndichte über den Zellen SDC bei leicht reduzierter Korndichte über dem Insterstitium. Dies äußert sich in einer Zunahme des Verteilungsindex VI um 41,05 % gegenüber dem Kontrollwert (Tab. 33). Die intrazelluläre Anreicherung des ^{3}H-Glucosamin ist in allen Knorpelzonen feststellbar, erreicht aber in der Radiärschicht ein extremes Ausmaß (Abb. 44).

Unter der Gabe von 0,200 mg Oxaceprol werden widersprüchliche Resultate erhalten: Abnahme der mittleren Kornzahl pro Zelle gpc bei hochsignifikanter Zunahme der Silberkorndichte über den Zellen SDC und des Verteilungsindex VI. Gleichzeitig wird eine signifikante ($p < 0,05$) Erniedrigung der extrazellulären Radioaktivität SDI ermittelt (Tab. 33). Auch die zonale Analyse des Verteilungsmusters der Radioaktivität innerhalb des Knorpelgewebes führte zu überraschenden Ergebnissen: Starke Erhöhung der zellulären Radioaktivität in den Meßbereichen Z II b und Z III, Zunahme der extrazellulären Radioaktivität in der Tangentialschicht Z I und den Zonen Z II a und Z II c der Intermediärschicht (Abb. 44).

Tabelle 33 : ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner nach zwei intraartikulären Injektionen von Oxaceprol im Abstand von drei Tagen (n = 10)

	Dosis Oxaceprol mg	LI % $\bar{x} \pm s_{in}$	gpc $\bar{x} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	VI
rechte Gelenke	-	97.64±0.279	7.18±1.137	27.55±2.172	3.16±0.241	8.72
linke Gelenke	0.100	96.85±1.273	10.53±2.777	* 36.49±2.792	2.97±0.285	** 12.30
relative Differenz		- 0.81 %	+ 46.66 %	+ 32.45 %	- 6.01 %	+ 41.05 %
rechte Gelenke	-	97.49±0.443	7.70±3.848	32.28±2.417	3.69±0.158	8.74
linke Gelenke	0.200	97.33±1.126	7.00±1.207	*** 40.73±2.212	* 2.68±0.385	*** 15.20
relative Differenz		- 0.16 %	- 9.09 %	+ 26.18 %	- 27.37 %	+ 73.91 %

Differenzen-t-Test: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

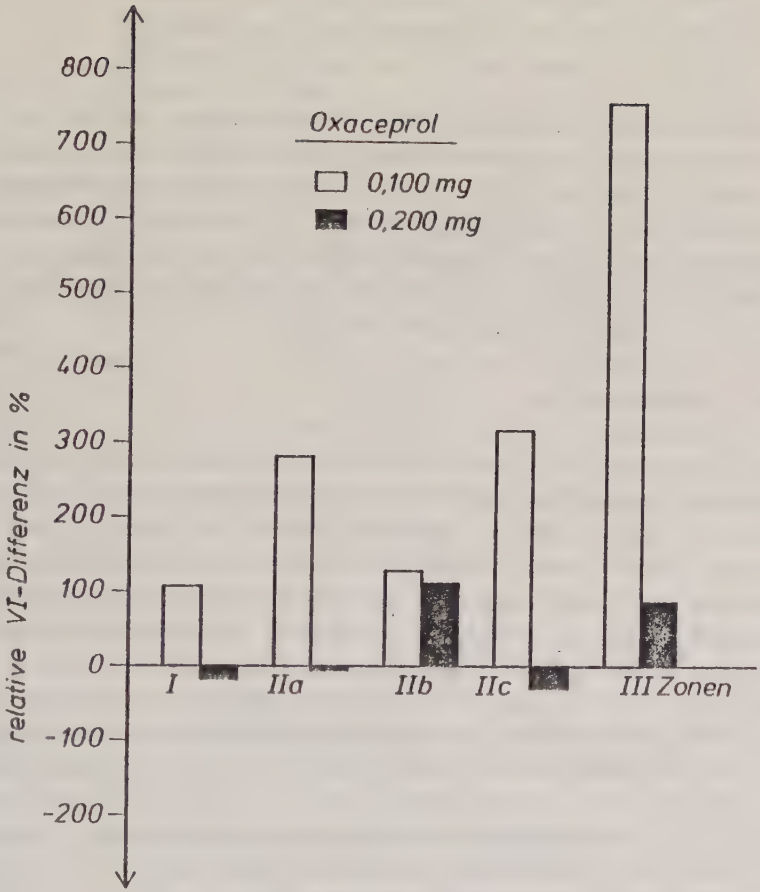


Abbildung 44: Beeinflussung der Verteilung von ^{3}H-Glucosamin im Gelenkknorpel gesunder Versuchstiere durch intraartikuläre Injektion von 0,100 mg ☐ und 0,200 mg ■ Oxaceprol im Kurzzeit-Experiment; dargestellt als relative Differenz der Verteilungsindices im Rechts-Links-Vergleich (n=10).

3.3.2. LANGZEIT-VERSUCHE

3.3.2.1. NSAID

Im voranstehenden Teil dieser Arbeit beschäftigten wir uns mit den Einflüssen von nichtsteroidalen und steroidalen Antiphlogistika sowie von Antiarthrotika auf das artikuläre Knorpelgewebe nach kurzfristiger In-vivo-Applikation. Im folgenden sollen die Auswirkungen von wöchentlich wiederholten intraartikulären Injektionen von nichtsteroidalen Antirheumatika im Langzeit-Versuch bis zu 16 Wochen beschrieben werden.

3.3.2.1.1. Diclofenac-Na

Unsere Kurzzeit-Versuche demonstrierten, daß Diclofenac-Na als einziges der getesteten Prüfsubstanzen keine negativen Wirkungen auf die fünf untersuchten Meßgrößen ausübt. In einem Langzeit-Experiment über sechzehn Wochen, sollte festgestellt werden, ob die Substanz auch noch nach sechzehn wöchentlichen intraartikulären Injektionen von 2 mg ähnlich günstige Resultate zu zeigen vermag. Die Diclofenac-Na-Injektionen erfolgten in die linken Kniegelenke, die kontralateralen Gelenke dienten als Kontrolle. In den Tabellen 3.3.2.1.1. des tabellarischen Anhangs sind die Meßergebnisse ausführlich wiedergegeben.

Diclofenac-Na führt auch unter diesen Bedingungen zu einer Erhöhung aller fünf untersuchten Parameter (Tab. 34).

Tabelle 34: Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach sechzehn wöchentlichen Injektionen von 2 mg Diclofenac-Na in die linken Gelenke der Versuchstiere (n=8)

	LI % $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	gpc $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	VI
rechte Gelenke	84.19±2.423	6.90±2.392	13.89±1.166	2.43±0.090	5.72
	*	***	***	***	***
linke Gelenke	86.98±1.664	13.80±3.853	26.05±2.062	3.46±0.127	7.53
relative Differenz	+ 3.31 %	+ 100.00 %	+ 87.54 %	+ 42.39 %	+31.64%

Differenzen-t-Test: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

Mit Ausnahme des Markierungsindexes LI % nehmen alle Meßgrößen hochsignifikante Werte an ($p < 0,001$). Die höchsten Steigerungsraten werden bei der mittleren Silberkornzahl pro Zelle gpc und der Silberkorndichte über den Zellen gesehen.
Wie über die relativen Differenzen der Verteilungsindices gezeigt werden kann, findet die gesteigerte Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in die zellulären Kompartinente gleichermaßen in der Tangentialschicht und in der Intermediärzone statt (Abb. 45) Eine Prävalenz einer bestimmten Zone ist nicht eindeutig feststellbar. Mit einer relativen Differenz von + 20.60 % zeigt die Radiärschicht die geringste Verteilungsänderung der inkorporierten Radioaktivität nach Diclofenac-Na-Behandlung.

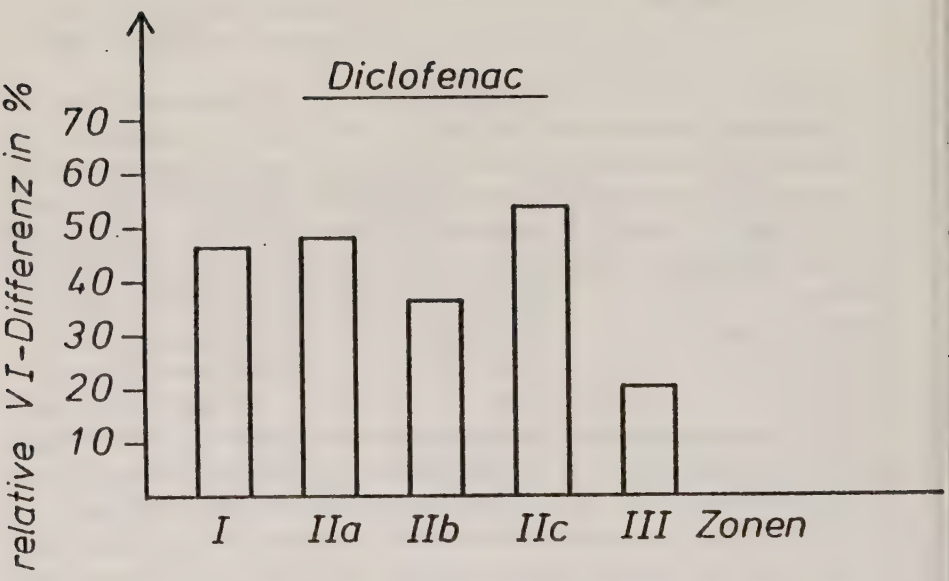


Abbildung 45: Einfluß einer Langzeit-Behandlung mit Diclofenac-Na auf das Verteilungsmuster von ^{3}H-Glucosamin im tierischen Gelenkknorpel; dargestellt als relative Differenzen der Verteilungsindices im Rechts-Links-Vergleich (n=8)

Auch die makroskopische Betrachtung des zur Entnahme aus dem Gelenk frei präparierten Knorpels ergab keinen Hinweis auf einen schädigenden Einfluß der Prüfsubstanz.

3.3.2.1.2. Fenbufen

Neben Diclofenac-Na war als weiteres nichtsteroidales Antiphlogistikum Fenbufen Gegenstand unserer Untersuchungen. Die Meßdaten dieser in-vitro-ex-vivo-Studie sind im Anhang den Tabellen 3.3.2.1.2. zu entnehmen. Ähnlich wie Diclofenac-Na scheint diese Prüfsubstanz nicht zu einer negativen Beeinflussung des anabolen Stoffwechsels der Chondrozyten zu führen. Nach zwölf intraartikulären Injektionen von 0,5 mg im Abstand von einer Woche werden keine auffälligen Veränderungen der untersuchten Parameter festgestellt, so daß wir die Meßdaten aus dem Versuch mit einer intraartikulären Dosis von 2 mg Fenbufen mit diesen Parametern in Tab. 35 vergleichen können. Die Tiere, denen wöchentlich 2 mg Fenbufen intraartikulär appliziert wurden, zeigen neben einer deutlichen Erhöhung der mittleren Kornzahl pro Zelle gpc eine um ca. 66 % erhöhte Silberkorndichte über den Zellen SDC, bei einer fast ebenso großen Zunahme der extrazellulären Radioaktivität SDI (62,94%). Verglichen mit den Werten, die unter der Gabe von 0,5 mg Fenbufen pro Woche erhalten wurden, ist deshalb auch nach 2 mg insgesamt keine wesentliche Beeinflussung des Verteilungsmusters der inkorporierten Radioaktivität erkennbar (Tab. 35).

Tabelle 35: Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach zwölf intraartikulären wöchentlichen Injektionen von 0,5 mg Fenbufen in die linken Kniegelenke und von 2,0 mg Fenbufen in die rechten Kniegelenke der Versuchstiere (n = 5)

Konzentration Fenbufen mg	LI % $\bar{x} \pm s_{in}$	gpc $\bar{x} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	VI
0.5	86.37±1.918	6.42±2.451	13.74±1.065	1.43±0.098	9.61
2.0	80.44±1.866	8.53±2.879	22.82±2.186	2.33±0.139	9.79
relative Differenz	- 6.86 %	+ 32.87 %	+ 66.08 %	+ 62.94 %	+1.87 %

Ein detaillierteres Bild ergibt die Untersuchung der diversen histologischen Zonen des Knorpelgewebes. Unter Bezug auf die zonalen Verteilungsindices nach 0,5 mg-Dosen werden überraschend hohe Zunahmen der VI-Werte konstatiert. Die Steigerungsraten betragen im einzelnen: 56,56 % in der Tangentialschicht, 126,20 % in der Zone Z II b, 623,12 % in Z II c und 10,63 % in der Radiärschicht. Lediglich im oberflächennahen Intermediärschichtbereich Z II a nimmt die intrazelluläre Radioaktivität relativ um 2,18 % ab (Abb. 46).

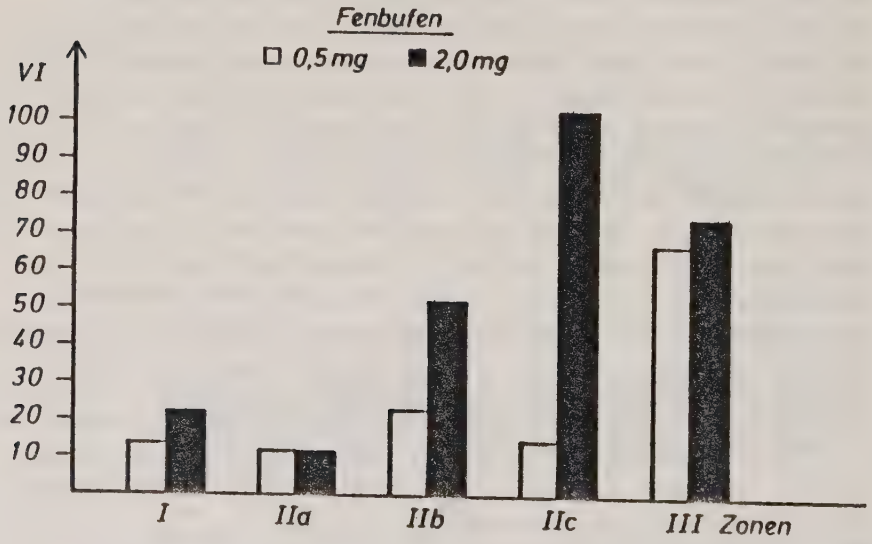


Abbildung 46 : Verteilungsmuster der inkorporierten Radioaktivität im Kniegelenkknorpel von Hühnern nach zwölf intraartikulären Injektionen von 0,5 bzw. 2,0 mg Fenbufen im Abstand von einer Woche (n = 5)

3.3.2.2. Glukokortikoide und Kombinationen

Wie bereits erwähnt, haben tierexperimentelle Untersuchungen der Arbeitsgruppe KALBHEN gezeigt, daß durch intraartikuläre Applikation von Kortikosteroiden in die Kniegelenke von Hühnern Knorpeldestruktionen induziert werden können, die eine gute Übereinstimmung mit den degenerativen Prozessen einer Humanarthrose aufweisen. In diesem Zusammenhang interessierte uns, ob die Therapie einer durch Dexamethason ausgelösten Arthrose mit Glykosaminoglykanpolysulfat,bzw. DAK-16 zu einer autoradiographisch feststellbaren Stimulierung biosynthetischer Leistungen der Chondrozyten führt. Wir injizierten zur Arthroseinduktion wöchentlich 1 mg Dexamethason-ö-phosphat in beide Kniegelenke der Versuchstiere. Zur Therapie wurde in die rechten Kniegelenke zusätzlich 0,1 mg GAGPS,bzw. DAK-16 appliziert. Sechs und zwölf Wochen nach Versuchsbeginn bestimmten wir zur Beurteilung des Therapieerfolges die Einbauraten an ^{3}H-Glucosamin in vitro und analysierten die Ergebnisse im Rechts-Links-Vergleich.

3.3.2.2.1. Dexamethason-o-phosphat - GAGPS

Das Ausmaß der Beeinflussung anaboler Stoffwechselprozesse durch die Behandlung einer mittels intraartikulärer Injektionen von Dexamethason-o-phosphat ausgelösten Arthrose mit GAGPS, ist in Tabelle 36 zusammenfassend dargestellt (Meßdaten im einzelnen s. Tab. 3.3.2.2.1. A - D des Anhangs).

Wie ein Vergleich der Meßdaten zeigt, ist nach sechs Wochen statistisch kein Unterschied zwischen den therapierten und nicht therapierten Gelenken erkennbar. Die Knorpelproben des Tierkollektives, das zwölf Wochen lang behandelt wurde, weisen dagegen eine hochsignifikante Erhöhung des Verteilungsindex VI auf ($p < 0{,}001$), die auf eine Zunahme der Silberkorndichte über den Zellen SDC bei gleichzeitiger hochsignifikanter Abnahme der extrazellulären Radioaktivität zurückzuführen ist und auf eine gesteigerte Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in die zellulären Kompartimente hinweist.

Tabelle 36: Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel unter dem Einfluß einer mittels Dexamethason ausgelösten Arthrose und der Therapie mit GAGPS

Versuchs-dauer (Wochen)	Dosis GAGPS mg	Dosis Dexame-thason$^+$ mg	LI % $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	gpc $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	VI
6	-	1.0	88.93±1.174	11.19±2.567	26.92±1.701	3.37±0.098	7.99
6	0.1	1.0	86.79±1.328	11.90±4.167	27.04±2.138	3.28±0.093	8.24
relative Differenz			- 2.41 %	+ 6.34 %	+ 0.45 %	- 2.67 %	+3.13%
12	-	1.0	86.37±2.580	9.17±3.019	25.63±1.556	3.15±0.102	8.14
12	0.1	1.0	83.94±1.396	9.77±3.081	28.95*±1.619	1.66***±0.067	17.44***
relative Differenz			- 2.81 %	+ 6.54 %	+ 12.95 %	- 47.30 %	+114.25%

Differenzen-t-Test: * = $p < 0{,}05$; ** = $p < 0{,}01$; *** = $p < 0{,}001$

$^+$ Dexamethason-o-phosphat

3.3.2.2.2. Dexamethason-o-phosphat - DAK-16

Völlig andersartige Befunde zeigen die Versuchstiere, die mit dem GAG-Peptid-Komplex DAK-16 behandelt wurden (Tab. 3.3.2.2.2. A - D des tabellarischen Anhangs).
Nach sechs Wochen finden wir eine Erniedrigung der Silberkorndichten sowohl über den Zellen als auch über der Matrix, obwohl die mittlere Kornzahl pro Zelle gpc und der Verteilungsindex VI deutlich angestiegen sind (Tab. 37). Das Ergebnis ist insofern widersprüchlich, als gpc und VI auf eine Erhöhung der intrazellulären Radioaktivität hinweisen.

Nach zwölf Wochen können positive Effekte der DAK-16-Therapie aber durchaus nachgewiesen werden. Die gleichzeitige signifikante Wertzunahme der Parameter gpc, SDC und SDI bei statistisch unverändertem Verteilungsindex deutet auf einen gesteigerten Einbau von ^{3}H-Glucosamin in zelluläre und extrazelluläre Strukturen oder Makromoleküle hin (Tab. 37).

Wie noch zu diskutieren sein wird, kann in diesem Resultat eine chondroprotektive Wirkung des DAK-16 vermutet werden. Daneben werden differierende Wirkungsqualitäten zwischen GAGPS und GAG-Peptid-Komplex erkennbar: Ersteres führt zu einer Erhöhung der intrazellulären Radioaktivität, während DAK-16 zusätzlich auch die Konzentration des extrazellulär gebundenen Präkursors erhöht, was im Sinne einer stimulatorischen Wirkung auf biosynthetische Prozesse gedeutet werden kann.

Tabelle 37: Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel unter dem Einfluß einer mittels Dexamethason ausgelösten Arthrose und der Therapie mit DAK-16

Versuchs-dauer (Wochen)	Dosis DAK-16 mg	Dosis Dexame-thason+ mg	LI % $\bar{x} \pm s_{in}$	gpc $\bar{x} \pm s_{in}$	SDC/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	SDI/100µm² $\bar{x} \pm s_{in}$	VI
6	-	1.0	91.73±1.253	12.71±3.821	26.88±2.954	3.92±0.166	6.86
6	0.1	1.0	90.38±0.999	13.92±4.929	25.04±2.244	3.15**±0.088	7.95**
relative Differenz			- 1.47 %	+ 9.52 %	- 6.84 %	- 19.64 %	+ 15.89%
12	-	1.0	91.76±1.547	6.76±2.691	17.10±1.019	1.00±0.023	17.10
12	0.1	1.0	91.00±1.704	7.71*±2.712	20.34**±1.915	1.20**±0.062	16.95
relative Differenz			- 0.83 %	+ 14.05 %	+ 18.95 %	+ 20.00 %	- 0.88 %

Differenzen-t-Test: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

+ Dexamethason-o-phosphat

3.4. ^{3}H-MONOJODACETAT VERTEILUNGSSTUDIE IN VIVO

Das im folgenden beschriebene Experiment wurde mit dem Ziel durchgeführt, weitere Erkenntnisse über die Verweildauer von Monojodacetat im Knorpelgewebe nach intraartikulärer Injektion zu erhalten, die Vermutungen bezüglich der inhibitorischen Wirkung biochemisch zu untermauern und die bevorzugten Angriffspunkte innerhalb der unterschiedlichen histologischen Knorpelzonen zu identifizieren.
Dazu injizierten wir einem Tierkollektiv je 50 µCi ^{3}H-Monojodacetat in beide Kniegelenke und führten die Knorpelproben nach Tötung der Tiere zu definierten Zeitpunkten der Histoautoradiographie zu.
Die Meßwerte sind in Tabelle 3.4. im Anhang wiedergegeben und lassen sich wie folgt zusammenfassen: Monojodacetat diffundiert rasch aus dem Gelenkspalt in das Knorpelgewebe. Nach zwei Stunden sind über den Chondrozyten der tiefen Knorpelzonen Z II c der Intermediärschicht und der Radiärschicht Z III die höchsten relativen Konzentrationen registrierbar. Auf diese erste Invasionsphase scheint eine Distributionsphase zu folgen , während der eine Anreicherung des Inhibitors mindestens bis zur achten Stunde nach Injektion in den zellulären Kompartimenten der intermediären Knorpelzone Z II b erfolgt. Nach 24 Stunden sind noch immer hohe radioaktive Konzentrationen im Gewebe nachweisbar. Die Elimination der Radioaktivität aus dem Knorpelgewebe verläuft während der 24stündigen Beobachtungsperiode linear mit einer Halbwertszeit von ca. 19 Stunden und folgt einer Geraden mit negativer Steigung ($y = - 0{,}26\ x + 10{,}53$), woraus auf eine Gesamtverweildauer im Knorpel von über 40 Stunden geschlossen werden kann.

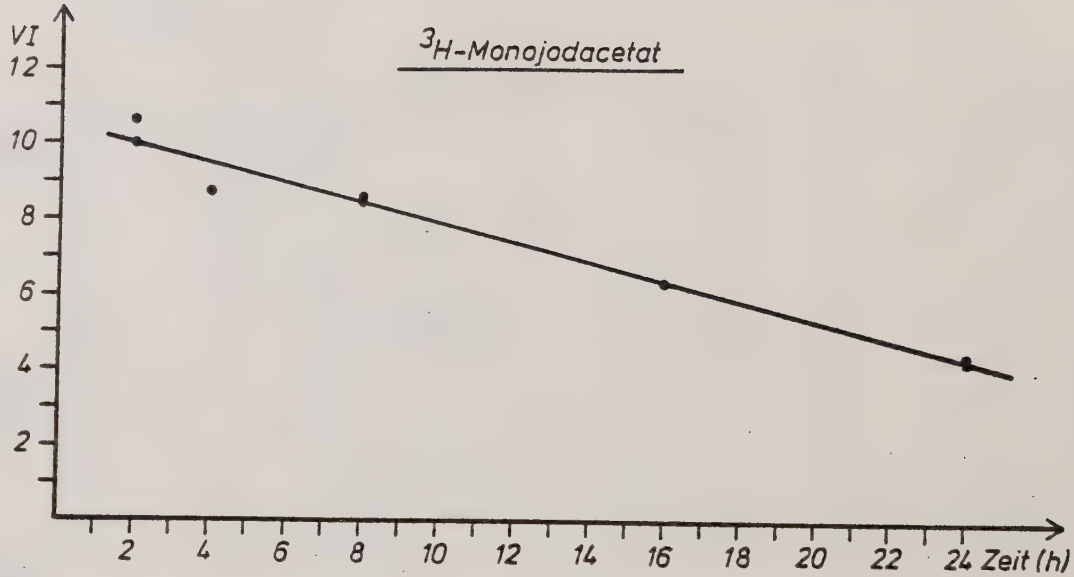


Abbildung 47: Verteilungskinetik von ^{3}H-MJA im tibio-femuralen Gelenkknorpel nach intraartikulärer Injektion von 50 µCi

4. DISKUSSION

4.1. EINFLUß VON PHARMAKA AUF ANABOLE PROZESSE DES KNORPELSTOFFWECHSELS

4.1.1. NSAID

Zum Wirkungsmechanismus der Antirheumarika liegen zahlreiche Arbeiten vor (Literaturübersicht siehe DOMENJOZ (46), HUSMANN (84,85,86), KALBHEN und DOMENJOZ (102), LITTLER (127)), von denen sich ein großer Teil auch mit dem Einfluß von Pharmaka auf den Bindegewebsstoffwechsel beschäftigt (Übersicht siehe TRNAVSKY (196)). Die Wirkungen der Antiphlogistika auf den Bindegewebs-Metabolismus können nach KALBHEN (98) wie folgt zusammengefaßt werden:

A. Hemmung der Proteoglykan-Synthese durch Verminderung
   1. der Synthese der Aminozucker (Glucosamin und Galaktosamin)
   2. des Aminozucker-Einbaus in Proteoglykane
   3. der Sulfat-Inkorporation in Proteoglykane
   4. des Aminosäure-Einbaus in Proteoglykane

B. Hemmung der Proteinsynthese

C. Hemmung der Kollagensynthese

D. Hemmung der Zellteilung (antiproliferativer bzw. zytostatischer Effekt)

Diese Vielzahl bekannter Einflüsse kann aber nicht darüber hinwegtäuschen, daß eine Reihe von Details noch nicht restlos geklärt ist. Wir teilen in keinem Fall die Meinung von MÖHRLE (142), daß der Wirkungsmechanismus nichtsteroidaler Antirheumatika für alle Verbindungen und Stoffgruppen der gleiche ist.

Im Rahmen unserer tierexperimentellen, biochemisch-pharmakologischen Studien über den Einfluß nichtsteroidaler Antiphlogistika auf die anabolen Prozesse des Knorpelstoffwechsels konzentrierten wir uns auf die Substanzen Na-Salicylat, Indometacin, Diclofenac-Na und Fenbufen. Neben reinen in-vitro-Studien wurden sogenannte In-vitro-ex-vivo-Untersuchungen im Kurzzeit- und Langzeitversuch durchgeführt.

Na-Salicylat und Indometacin lieferten in vitro vergleichbare Befunde im Sinne einer signifikant erniedrigten ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme (bis 61,43 % bzw. bis 39,42 % Abnahme). Im Gegensatz dazu zeigten sie divergierende Effekte auf die Präkursorinkorporation in animalischen Kniegelenkknorpel, wenn sie vor der Inkubation in einem ^{3}H-Glucosamin-haltigen Medium im Kurzzeitexperiment von vier Tagen gesunden Versuchstieren intraartikulär verabreicht wurden.

Nach Injektion von zweimal 20 mg Na-Salicylat an aufeinanderfolgenden Tagen,bzw. zweimal 1 mg Indometacin im Abstand von drei Tagen, zeigte die anschließende autoradiographische Untersuchung die in Tab. 38 aus den umfangreichen Meßdaten zusammengefaßten Ergebnisse.

Tabelle 38: Änderung der Silberkorndichte über den Zellen (SDC) und der Matrix (SDI) nach zweimaliger intraartikulärer Injektion von 20 mg Na-Salicylat bzw. 1 mg Indometacin in einem Zeitraum von vier Tagen (+ = Erhöhung, - = Erniedrigung gegenüber den Kontrollwerten)

Substanz	Dosierung (mg)	SDC-Änderung (%)	SDI-Änderung (%)
Na-Salicylat	2 x 20	+ 12.61	- 12.86
Indometacin	2 x 1	+ 7.64	+ 176.31

Wie durch die Erhöhung der Silberkorndichte über den Zellen SDC um 12,61 % angezeigt wird, nahm der Anteil intrazellulär fixierter Radioaktivität unter dem Einfluß von Na-Salicylat zu, während die Silberkorndichte über dem Interstitium SDI und damit das Ausmaß des Einbaus in extrazelluläre Strukturen um 12,86 % erniedrigt wurde. Indometacin bewirkte eine leichte, nicht signifikante Erhöhung der Silberkorndichte über den Chondrozyten SDC, aber eine sehr deutliche Zunahme der Radioaktivität in der Matrix (176,31 %; $p < 0,001$).
Unsere histoautoradiographischen Untersuchungen belegen, daß unter den gegebenen experimentellen Bedingungen intraartikulär appliziertes Na-Salicylat zu einer gesteigerten Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in das zelluläre Kompartiment führt, während Indometacin besonders den Anteil der extrazellulär gebundenen Radioaktivität erhöht.

Unter geeigneten autoradiographischen Versuchsbedingungen wird die Präsenz eines radiomarkierten Präkursors innerhalb der Zellgrenzen vitaler, partiell geschädigter sowie abgestorbener Zellen durch Schwärzung entsprechender Areale einer Photoemulsion evident.
Im histoautoradiographischen Experiment, das zusätzlich die unspezifische Elution des radioaktiven Gewebes während der histologischen Aufarbeitung mit einer Vielzahl unterschiedlicher wässeriger und organischer Lösungsmittel sowie deren Gemische beinhaltet, sind im wesentlichen nur noch ehemals lebende und in einem geringeren Ausmaß auch nicht letal geschädigte Zellen befähigt, die ursprünglich vorhandenen radioaktiven Moleküle oder Strukturen durch ihre Markierung anzuzeigen. Das prozentuale Verhältnis zwischen markierten und nicht markierten Zellen gilt daher in der Histoautoradiographie als ein Index für die Vitalität eines biologischen Gewebes zum Zeitpunkt der Untersuchung. Na-Salicylat und Indometacin bewirkten in unseren Versuchen keine wesentliche Veränderung der Markierungs-. indices LI %. Es erscheint deshalb unwahrscheinlich, daß Na-Salicylat und Indometacin in den von uns verwendeten Dosen ausgeprägte zytotoxische oder zytozide Effekte zeigen.

In der Literatur liegen zahlreiche Arbeiten vor, die den Einbau von ^{3}H-Glucosamin in Proteoglykane nach In-vitro-Inkubation eindeutig belegen, von denen nur zwei Studien jüngeren Datums von HRONOWSKI und ANASTASSIADES (83) und der Gruppe um HASCALL (203) angeführt werden sollen, so daß wir es als gesichert ansehen können, daß ^{3}H-Glucosamin unter unseren Versuchsbedingungen in Makromoleküle des Gelenkknorpelgewebes eingebaut wird. Nicht strukturgebundene Präkursormoleküle werden - wie bereits erläutert - während der histologischen Aufarbeitung des Gewebes quantitativ durch die diversen wässerigen und alkoholischen Lösungsmittel eluiert.
Die Inkorporationsrate von ^{3}H-Glucosamin in die verschiedenen Glykosaminoglykane ist von der Inkubationszeit abhängig und zeigt ein sehr komplexes Muster. Aus den Arbeiten von HRONOWSKI und ANASTASSIADES und YANAGISHIHTA et al. (203) wird ersichtlich, daß die Aufnahme von markiertem Glucosamin in den intrazellulären Hexosaminpool während der ersten drei Stunden der Inkubation besonders groß ist, was wir aufgrund unserer Ergebnisse aus den Vorversuchen zur Ermittlung der Inkubationszeit bestätigen können. Die Abb. 30 auf Seite 94 demonstriert in eindeutiger Weise, daß die Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den Gelenkknorpel überwiegend während der ersten drei Stunden der Inkubation erfolgt.

Die Glykosaminoglykansynthese kann auf der Stufe des Glucosamin-Einbaus an verschiedenen Stellen durch inhibitorische Substanzen beeinträchtigt werden (Übersicht bei TRNAVSKY (196)). Eine Schlüsselreaktion ist die Inkorporation von Glucosamin in die Polysaccharidkette. KALBHEN et al. (104) zeigten an Fibroblastenkulturen, daß der Glucosamin-Einbau sowohl durch Na-Salicylat als auch durch Indometacin gehemmt wird. Es ist denkbar, daß dieser Effekt mit der N-Acetylierung des Glucosamin über die Acetylcoenzym-A-Synthese in Zusammenhang steht (196). Ein anderer wichtiger Syntheseschritt ist die Bildung des Glukuronsäure-Anteils durch enzymatische Oxidation von UDP-Glucose mittels einer spezifischen NAD-abhängigen Dehydrogenase. Na-Salicylat und in geringem Umfang Indometacin können diese Reaktion kompetitiv hemmen (122). HINES und SMITH (79) vermuten eine generelle Inhibition

von Dehydrogenasen unter dem Einfluß von Salicylaten. Auch die Biosynthese des Coenzyms NAD kann durch eine Reihe von nicht-steroidalen Antiphlogistika beeinträchtigt werden. Das NAD synthetisierende Enzym - Nikotinsäure-Phosphoribosyl-Transferase - in menschlichen Blutplättchen ist empfindlich gegenüber Salicylat und Indometacin. Die von GREILING et al. (70), KALBHEN et al. (104), PALMOSKI und BRANDT (153) und BRETTSCHNEIDER et al. (19) beschriebenen und in unseren In-vitro-Untersuchungen bestätigte inhibitorische Wirkung des Na-Salicylat kann im Zusammenhang mit der Beeinflussung der Kondensationsreaktion zwischen Glukuronsäure und Glucosamin gesehen werden. Der Akzeptor dieser durch UDP-Glukuronyl-Transferase vermittelten Reaktion ist nicht spezifisch und schließt Phenole, Alkohole, Amine und Fettsäuren ein. Auch Salicylat ist ein starker Akzeptor und wirkt, wie LEE und SPENCER (122) beschrieben, im Sinne einer kompetitiven Hemmung.

Aufgrund der von FENNER (58) nachgewiesenen Synovialkinetik der untersuchten Substanzen, ist anzunehmen, daß die intra-artikulären Konzentrationen von Na-Salicylat und Indometacin während des Versuchszeitraumes nicht konstant sind. PALMOSKI und BRANDT (153) beobachteten in "drug washout"-Experimenten mit Na-Salicylat eine vollständige Wiederherstellung der um 27 % verminderten GAG-Synthese schon zwei Stunden nach der Salicylatauswaschung. Für Ibuprofen und Fenoprofen lagen die entsprechenden Zeitwerte bei 8 und 24 Stunden. In diesem Zusammenhang könnten unsere In-vivo-Befunde mit Na-Salicylat (12,61 %ige Zunahme der intrazellulären Radioaktivität und 12,86 %ige Verminderung des extrazellulär gebundenen Präkursors) als ein Resultat der gegen Versuchsende wieder einsetzenden GAG-Synthese gesehen werden, nachdem vorher aufgrund der intra-artikulären Injektion von Na-Salicylat die Synthese durch Salicylat inhibiert worden war.
Es ist auch denkbar, daß unter der kurzfristigen Na-Salicylat-Einwirkung im Chondrozyten eine nicht-effiziente metabolische Stimulation, im Sinne der von MARCELON et al. (133) beschriebenen Hyperstimulation, erzeugt wird. Das Ergebnis eines solschen Prozesses wäre dann eine Erhöhung der Silberkorndichte über den Chondrozyten und eine Abnahme der Korndichte im Interzellulärraum.

LIEBELT (125) beobachtete 4 Tage nach Injektion von zweimal 20 mg Na-Salicylat in die Kniegelenke gesunder Hühner gegenüber den Kontrollgelenken eine signifikante Steigerung der Aktivität der zum Abbau der Knorpelmatrix befähigten β-Glukuronidase im artikulären Knorpelgewebe. Unter Berücksichtigung der von LIEBELT in unserem Institut im Parallelversuch zu unserem Experiment bei genau gleichen Bedingungen gesehenen Salicylat-induzierten Permeabilitätsstörung lysosomaler Membranen muß zur Erklärung der erniedrigten extrazellulären Radioaktivität auch an einen Abbau der Knorpelmatrix durch lysosomale Enzyme gedacht werden.
Dies wäre gut mit der von uns unter Na-Salicylat-Einfluß beobachteten Änderung des Verteilungsmusters der inkorporierten Radioaktivität in den einzelnen Knorpelzonen kompatibel: Die von LIEBELT gefundene erhöhte Enzym-Aktivität war besonders groß in der oberflächennahen Knorpelzone und fiel zum subchondralen Knochen hin ab. Im Gegensatz dazu zeigen unsere Befunde in dieser Zone, bezogen auf die intrazelluläre Radioaktivität, eine geringe extrazelluläre Radioaktivität.

Eine solche Membranlabilisierung ist unter dem Einfluß von Indometacin unwahrscheinlich. COMPER et al. (39) beschrieben kürzlich eine Indometacin-induzierte Hemmung des Proteoglykan-Katabolismus. FELDMANN (57) beschreibt in einer Übersichtsarbeit den bereits in relativ niedrigen Dosen deutlichen Lysosomenstabilisierenden Effekt des Indometacin, während Glukokortikoide diesbezüglich weniger wirksam sind.

Wird nach PANAGIDES et al. (154) arthritisches Synovialgewebe zusammen mit gesundem Gelenkknorpelgewebe kultiviert, so induziert es den Abbau von Knorpel-Proteoglykanen. In diesem System erwiesen sich Indometacin und Hydrokortison als Inhibitoren der Proteoglykan-Degradation.Durch diese Verminderung des GAG-Abbaus kann die von uns gesehene starke Zunahme (176,31 %) der extrazellulären Radioaktivität nach intraartikulärer Indometacin-Injektion zum Teil erklärt werden.

Auch ein direkter Einfluß von Indometacin auf die GAG-Synthese ist in der Literatur beschrieben. KIRKPATRICK et al. (113) sahen in einem Monolayerkultursystem aus Gelenkchondrozyten von Kaninchen keine Änderung der Proteoglykansynthese nach Indometacin und Diclofenac-Na. MCKENZIE et al. (136) konnten mit einer Organkulturmethode für menschlichen Femurkopfknorpel zeigen, daß Indometacin die Synthese sulfatierter GAG nicht bei allen Kulturen zu hemmen vermag. PALMOSKI und BRANDT (153) untersuchten Gelenkknorpelschnitte von Hunden in Organkultur und fanden keinen negativen Effekt des Indometacin auf die GAG-Synthese.

MARCELON et al. (133) berichten von einer Stimulation des Zellstoffwechsels im Papain-Arthrose-Modell nach Indometacin. Den Effekt von verschiedenen Antirheumatika auf die Inkorporation von ^{14}C-Glucosamin in Rinderkorneen untersuchten BRETT-SCHNEIDER et al. (19). Sie zeigten, daß die Inkorporation von radioaktivem Glucosamin unter dem Einfluß von Indometacin leicht stimuliert wird. DEKEL et al. (42) beobachteten in ihren Versuchen mit Knorpelscheiben aus dem Costal-Knorpel von Schweinen nach hohen Indometacindosen eine Hemmung, nach niedrigen Dosen aber eine signifikante Stimulation der Glykosaminoglykan-Sulfatierung. Für eine gesteigerte Syntheserate spricht ebenfalls die zonale Analyse der von uns beobachteten Zunahme der extrazellulären Radioaktivität. Die größten Steigerungsraten finden wir in der stoffwechselaktiven Intermediärschicht, aber auch in der Tangential- und Radiärschicht ist eine erhöhte metabolische Aktivität deutlich erkennbar.

Zuletzt soll der in diesem Zusammenhang umstrittene Einfluß der Prostaglandine auf die Proteoglykansynthese erwähnt werden. Protaglandin E, dessen Bildung durch NSAID unterdrückt wird, führt, wie MALEMUD und SOKOLOFF (131) am Kaninchengelenkknorpel in Kultur nachwiesen, zu einer Inhibition der GAG-Synthese im Chondrozyten.

Eine solche Betrachtungsweise würde den nichtsteroidalen Antiphlogistika chondroprotektive Wirkungsqualitäten zusprechen. Diesem anscheinend günstigen Effekt muß aber die klinische Beobachtung gegenübergestellt werden, daß z.B. Indometacin den Verlauf einer Arthrose verschlimmern kann (RONNINGEN und LANGELAND (168), MILNER (140)). Aber auch die tierexperimentellen Untersuchungen zu den Prostaglandineinflüssen auf die GAG-Synthese sind nicht völlig eindeutig (160). Die übereinstimmende Meinung scheint zu sein, daß niedrige Prostaglandin-Konzentrationen (0,1 - 10µM) - wie z.B. in einem Gewebe unter dem Prostaglandin-Synthetase - hemmenden Einfluß von Indometacin - leicht stimulieren, aber hohe Konzentrationen (0,1 - 1 mM) - wie z.B. im Indometacin freien Gewebe - die GAG-Synthese merklich hemmen (glockenförmige Dosis-Wirkungskurve). Die Einbeziehung des zyklischen 3', 5'-AMP in die Regulation der GAG-Synthese (61) ist wahrscheinlich ebenfalls von einiger Signifikanz mit Blick auf die stimulatorischen Effekte der Prostaglandine auf die Adenylatzyklase-Aktivität (64, 187).

Diclofenac-Na

Um der Frage nachzugehen, inwieweit die von MAIER und WILHELMI (129,130) beschriebene protektive Wirkung von Diclofenac-Na auf die Spontanarthrose des C-57-black-Mäusestammes auch an anderen Tierspezies histoautoradiographisch überprüfbar ist, untersuchten wir den Einfluß von Diclofenac-Na auf die In-vitro-Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den Gelenkknorpel zunächst nach In-vivo-Applikation von zweimal 1 mg im Abstand von drei Tagen (Kurzzeitexperiment). Anschließend erfolgte im Langzeitversuch über 16 Wochen die Prüfung des metabolischen Zustandes des Knorpelgewebes nach sechzehn wöchentlich applizierten intraartikulären Dosen von 2 mg Diclofenac-Na.
Die Prüfsubstanz zeigte in beiden Versuchsreihen - gemessen am ^{3}H-Glucosamin-Einbau - eine starke stimulatorische Wirkung auf die Proteoglykanbiosynthese (Tab. 39).

Tabelle 39 : Einfluß von Diclofenac-Na auf autoradiographische Knorpelparameter nach intraartikulärer Applikation im Kurzzeit- (vier Tage) und Langzeitversuch (sechzehn Wochen).
+ = Erhöhung; - = Erniedrigung gegenüber den Kontrollwerten.

Versuchsdauer	Dosis mg	LI-Änderung %	gpc-Änderung %	SDC-Änderung %	SDI-Änderung %	VI-Änderung %
4 Tage	2 x 1	+ 9.95	+ 120.94	+ 132.83	+ 1.78	+ 129.58
16 Wochen	16 x 2	+ 3.31	+ 100.00	+ 87.54	+ 42.39	+ 31.64

Die im Kurzzeitversuch zunächst sichtbare Hyperstimulation geht, nach Ausdehnung des Zeitintervalls zwischen zwei Injektionen auf eine Woche, in eine zwar weiterhin stimulierte, aber produktive Synthese radiomarkierter Makromoleküle über. Noch nach sechzehn Wochen ist eine Verdoppelung der Silberkörner pro Zelle (gpc) neben einer um 87,54 % gesteigerten chondrozytären Silberkorndichte (SDC) und einer 42,39 %igen Erhöhung der extrazellulär gebundenen Radioaktivität (SDI) erkennbar.

Die Markierungsintensität der Zellen erreichte übereinstimmend in beiden Versuchsreihen in der Intermediärschicht ihr Maximum. Unter Berücksichtigung der Verteilung der intra- und extrazellulären Radioaktivität werden die höchsten Einbauraten im Kurzzeitversuch in der Tangentialschicht und den angrenzenden oberen Bereichen der Intermediärzone gefunden, während im Langzeitexperiment (16 Wochen) fast einheitliche Inkorporationsraten in der Tangential- und Intermediärschicht ermittelt werden. Auch dieser Befund spricht für eine weitgehende Normalisierung der anabolen Stoffwechselprozesse auf einem höheren Niveau.

Unsere Untersuchungsbefunde lassen die Schlußfolgerung zu, daß Diclofenac-Na auch nach einer 16 Wochen dauernden intraartikulären Applikation keine histoautoradiographisch feststellbaren Schädigungen der anabolen Prozesse des Proteglykanstoffwechsels im gesunden Hühnergelenkknorpel verursacht. Auch bei der Präparation der Kniegelenke zur Knorpelentnahme konnten wir makroskopisch keine Veränderungen des Gelenkknorpels feststellen. Ein zytotoxischer Effekt des Diclofenac-Na auf die Chondrozyten kann aufgrund der autoradiographischen Befunde ausgeschlossen werden.

KIRKPATRICK et al. (113) und MOHR et al. (162) untersuchten den Diclofenac-Einfluß auf die Inkorporation von radioaktivem Sulfat in Kaninchen-Chondrozyten in Monolayerkultur, bzw. in den Gelenkknorpel von Beagle-Hunden. Sie beobachteten an diesen Tierspezies ebenfalls keine schädigenden Wirkungen des Diclofenac-Na auf den Proteoglykanstoffwechsel. Quantitative autoradiographische Untersuchungen wurden von ihnen aber nicht durchgeführt.

Fenbufen

Anläßlich seiner Neueinführung in Deutschland (1979) wurde die Besonderheit der chemischen Struktur von Fenbufen hervorgehoben. Es gehört nicht in die Reihe der Phenylessigsäure-Derivate, sondern ist ein γ-Oxo-Buttersäure-Derivat. Die vorliegenden pharmakokinetischen Daten, insbesondere die zur Biotransformation

durchgeführten Untersuchungen, ließen schon damals den Schluß zu, daß dem Fenbufen selbst, als der unveränderten Substanz, nur eine untergeordnete Rolle in Bezug auf die Pharmakodynamik zukommt. Durch tierexperimentelle Untersuchungen war bekannt, daß einige Metabolite des Fenbufen entzündungshemmend und analgetisch wirksam sind, und diesem Pharmakon ein "Pro-drug"-Konzept zugrunde liegt. Der Hauptmetabolit, 4-Biphenylessigsäure, ist ein potenter Inhibitor der Prostaglandinsynthese und stellt das wesentliche Wirkungsprinzip der entzündungshemmenden Wirkung dar (Literaturübersicht bei SLOBODA et al. (183) und BROGDEN et al. (20)). Fenbufen selbst besitzt nicht die Eigenschaft der Prostaglandin-Synthetase-Hemmung, doch zeigt es mit Prostaglandinen andere Interaktionen: Es erwies sich als ein spezifischer Antagonist des PGE_1.

In der vorliegenden Arbeit prüften wir, ob 12 intraartikuläre Applikationen von Fenbufen in wöchentlichen Abständen einen autoradiographisch nachweisbaren Einfluß auf die anabolen Stoffwechselprozesse im gesunden Knorpelgewebe entfalten. Die Prüfsubstanz zeigte weder nach Gabe von 0,5 mg noch nach 2 mg zytotoxische Effekte. Die höhere Fenbufen-Dosis führte, verglichen mit den Resultaten nach 0,5 mg, zu einer deutlichen Steigerung des intra- und extrazellulär gebundenen ^{3}H-Glucosamin , ohne die Verteilung der Radioaktivität insgesamt zu verändern. Dieser Befund kann als Indiz dafür gelten, daß unter dem Einfluß des Fenbufen nicht nur eine erhöhte Inkorporation sondern eine Zunahme der synthetischen Leistungen der Chondrozyten und der Sekretion von radiomarkierten Makromolekülen in das extrazelluläre Kompartiment stattfindet. Für eine stimulatorische Wirkung spricht auch die zonale Analyse des Verteilungsmusters der Radioaktivität: Wie anhand der Verteilungsindices VI ersichtlich ist, führte die höhere Fenbufen-Dosis in der Intermediärschicht zu einer Zunahme des intrazellulären ^{3}H-Glucosamin um über 600 %. Wir werten diesen Untersuchungsbefund als Zeichen einer Hyperstimulation der in diesem Bereich ohnehin metabolisch aktiven Chondrozyten.
Die makroskopische Betrachtung des artikulären Knorpelgewebes während der Präparation zur Knorpelentnahme zeigte nach 12 Wochen keine morphologischen Veränderungen und deutet ebenfalls auf das Fehlen inhibitorischer Wirkungen des Fenbufen auf den Gelenkknorpel hin.

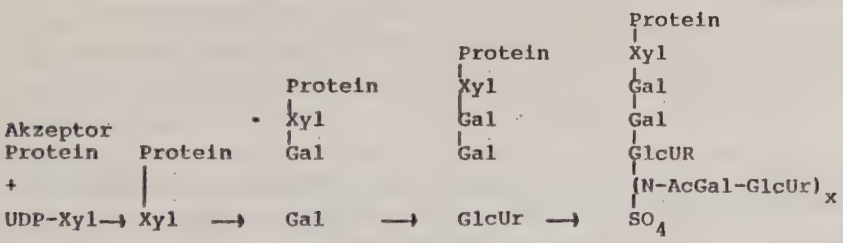
4.1.2. GLUKOKORTIKOIDE

Die intraartikuläre Gabe von Kortikosteroiden, die 1951 von HOLLANDER et al. (82) in die Therapie eingeführt wurde, stellt eine weit verbreitete und effektive medizinische Behandlungsmethode verschiedener arthritischer Erkrankungen dar. Fast ebenso lange sind aber auch Knorpelschäden aufgrund dieser Therapie in der Literatur beschrieben worden. Es ist heute wohl bekannt - wenn auch nicht ohne Gegenstimme -, daß wiederholte intraartikuläre Injektionen von Glukortikoiden eine progressive Degeneration des Gelenkknorpels verursachen (BEHRENS et al. (12), BENTLEY und GOODFELLOW (15), CHANDLER und WRIGHT (29), CHANDLER et al. (28), DAVID et al. (40), MANKIN und CONGER (132) MILLER und RESTIFO (139), MOSKOWITZ et al. (147), MURRAY (150), SALTER et al. (174), STEINBERG et al. (189), STRANDBERG (193), SWEETNAM et al. (184), ALARCON-SEGOVIA et al. (2), ISHIKAWA (88, 88a), ZACHARIAE (205)).

Tierexperimentelle Untersuchungen haben gezeigt, daß Kortikoidinjektionen biochemische (BEHRENS et al. (13), McCLUSKEY et al. (135), MANKIN und CONGER (132)) und strukturelle (LUTFI und KOSEL (128), BEHRENS et al. (12), ISHIKAWA (88) KOPTA et al. (116), MOSKOWITZ et al. (147), SALTER et al. (174), SHAW und LACEY (181)) Änderungen im Gelenkknorpel erzeugen.

Der Verlauf dieses destruktiven Prozesses ist bekannt: Nach BEHRENS (13) ist die erste Änderung eine rasche und tiefgreifende Unterdrückung der Kollagen- und Proteoglykansynthese, die von einem linearen Abfall der Proteoglykan-Konzentration und einem Elastizitätsverlust begleitet wird. Auf die nicht gewichttragenden Gelenkregionen hat der Festigkeitsverlust zunächst wenig Auswirkung, führt aber in den gewicht-tragenden Bereichen zur Bildung von oberflächlichen Fissuren und zystischer Degeneration in der mittleren Knorpelzone.
KARZEL und DOMENJOZ (110) und KARZEL et al. (111) demonstrierten, daß die beschriebenen Effekte über Wirkungen der Kortikoisteroide auf den Mucopolysaccharid- und Protein-Metabolismus zustande kommen. SCHILLER (186) führte diese antianabolen Eigenschaften des Hydrokortison auf eine Reduktion der Synthese der Proteinbindungsregion auf der Ebene der Galaktosyltransferase zurück.

Die Reaktionssequenz der GAG-Biosynthese schließt die Glykosylierung eines Akzeptorproteins und die Synthese der Bindungsregion ein. Darauf folgt die schrittweise, alternierende Addition der für das jeweilige Glykosaminoglykan charakteristischen Monosaccharide. Der erste Schritt in der Biosynthese des Chondroitin-4-sulfates, ist die Synthese eines Akzeptorproteins, gefolgt von dem Transfer eines Xylosemoleküls von UDP-Xylose auf das Akzeptorprotein durch das Enzym Xylosyltransferase (UDP-Xylose-Protein-Xylosyltransferase). Zwei Galaktosereste und ein Glukuronsäuremolekül werden nacheinander hinzugefügt und bilden die Bindungsregion. Diese Reaktion erfordert zwei spezifische Glykosyltransferasen (Abb. 48).



UDP - Xyl TRANSFERASE	UDP - Gal TRANSFERASE	UDP - GlcUr TRANSFERASE	Polymerase SULFOTRANS-FERASE

Abbildung 48 : Schematische Darstellung der GAG-synthetisierenden Einheit (Ac = Acetyl, Gal = Galaktose, GlcUr = Glukuronsäure, UDP = Uridindiphosphat, Xyl = Xylose)

Nach KILGORE et al. (112) stellt aber nicht die Aktivität der Xylosyltransferase, sondern die Konzentration des endogenen Akzeptorproteins den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt in der Chondroitinsulfatsynthese dar. Sie vermochten am Knorpel von Hühnerembryonen zu zeigen, daß die Glukokortikoide die Glykosaminoglykan-Biosynthese über eine verminderte Verfügbarkeit des endogenen Akzeptorproteins erniedrigen.

Diese hormonalen Effekte auf den GAG-Stoffwechsel des Knorpelgewebes werden wahrscheinlich über Steroid-Rezeptoren gesteuert. Bereits 1964 wiesen RAO und BHUSSRY (161) und 10 Jahre später auch LIPARI et al. (126) auf die Existenz solcher Rezeptoren hin. Durch die Arbeiten von CHEN et al. (30) wurden diese Vermutungen bestätigt und im Jahr 1978 konnten LEE et al. (121) zytoplasmatische Dexamethason-Rezeptoren im embryonalen Hühnerknorpel nachweisen. In rascher Folge wurden dann Glukokortikoidrezeptoren in der Kaninchen-Gingiva bzw. buccalen Mucosa (TCHERNITCHIN (194)) und in Gelenkknorpelkulturen von Kaninchen entdeckt (BLONDELON et al. (17)). Erst kürzlich wiesen YOUNG und STACK (204) zytoplasmatische Glukokortikoid-Bindungskomponenten im Gelenkknorpel ausgewachsener Hunde nach, die die typischen Charakteristika von Steroidrezeptoren - hohe Affinität, begrenzte Bindungskapazität und hohe Spezifität für Steroidliganden - zeigten.

Sowohl unsere In-vitro-Befunde, die eine signifikante, konzentrationsabhängige Verringerung der intrazellulär gebundenen Radioaktivität nach Inkubation gesunden Knorpelgewebes mit ^{3}H-Glucosamin unter dem Einfluß von Dexamethason bis zu 38,7 % zeigten als auch die Resultate nach intraartikulärer Gabe von Triamcinolonhexaacetonid im Kurzzeitexperiment können durch den beschriebenen Wirkungsmechanismus der Kortikoide erklärt werden. Die unter In-vivo Bedingungen gesehene leichte Erhöhung der intrazellulären Radioaktivität werten wir als Zeichen einer geringfügig stimulierten biosynthetischen Aktivität. Die um mehr als 200 % gesteigerte extrazelluläre Präkursorinkorporation stellt keineswegs einen positiven Effekt der Prüfsubstanz dar, sondern findet wahrscheinlich durch die folgenden, elektronenoptischen, ultrastrukturellen Beobachtungen ihre Erklärung. Die ultrastrukturellen Studien von BEHRENS (12) und MOSKOWITZ (147) demonstrieren, daß die beobachtete Abnahme der GAG-Synthese während wiederholter Triamcinolon-Injektionen mit einer massiven Reduktion des endoplasmatischen Retikulums (ER), des Golgi-Apparates und der Mitochondrien einhergeht.

Auch DEARDEN und MOSIER (41) stellen eine Reduktion des ER und des Golgi-Komplexes unter dem Einfluß von Prednison auf menschlichen Costal-Knorpel fest. Nach PRIEST (159) äußert sich der Effekt von Hydrocortison auf den Mandibular-Gelenkknorpel von Ratten in einer Verringerung der Chondrozytengröße, die auf ein kollabiertes ER und ein reduziertes Volumen der Golgi-Vesikel zurückzuführen ist. Die Veränderungen standen in Übereinstimmung mit der autoradiographisch nachgewiesenen verminderten synthetischen Aktivität der Chondrozyten. Nach systemischer Steroidbehandlung fanden HIGUCHI et al. (78), daß im Gelenkknorpel von Kaninchen eine Abnahme des chondrozytären ER und des Golgi-Apparates zu verzeichnen war. Sie deuteten diese Beobachtungen als eine Beeinträchtigung der Proteoglykan- und Proteinsynthese durch die Knorpelzellen. Vor diesem Hintergrund erlangtdie geringfügige Verminderung der durchschnittlichen Chondrozytendurchmesser, die wir im mikroskopischen Bild feststellten, aber zunächst keiner Bedeutung beimaßen, größeres Gewicht. Die aus unseren Untersuchungsbefunden hervorgehende starke Zunahme der extrazellulären Radioaktivität interpretieren wir überwiegend als Inkorporation des Präkursors in neutrale Glykoproteine und nicht in Proteoglykane. Wir befinden uns damit im Einklang mit den Befunden von SHAW und LACEY (181), die nach Kortikosteroid-Behandlung von Kaninchen eine Akkumulation von Glykogen und Lipiden innerhalb der Knorpelzellen und eine Anreicherung neutraler Glykoproteine in der Matrix konstatierten. Durch die zonale Analyse der extrazellulären Radioaktivität wird unsere Hypothese noch weiter untermauert: Die höchsten Einbauraten werden in der Matrix der Tangential- und vor allem der Intermediärschicht gesehen. In genau diesen Knorpelzonen fand MOSKOWITZ (147) nach intraartikulären Triamcinolonacetonid-Injektionen die ausgeprägtesten degenerativen Veränderungen.

Nach intraartikulärer Injektion von Kortikoiden muß mit systemischen Wirkungen gerechnet werden, welche die Eignung des kontralateralen Gelenkknorpels als Vergleichssubstanz in Frage stellen. MANKIN und CONGER (132) stellten bei Kaninchen eine signifikante Unterdrückung der Matrixsynthese im kontralateralen Gelenk fest. Auch SHAW und LACEY (181) halten das entgegengesetzte Gelenk als Kontrolle ungeeignet, um die Effekte intraartikulärer Kortikoidinjektionen zu beurteilen. Dies sollte bei der Beurteilung der vorliegenden Untersuchungsbefunde berücksichtigt werden.

4.1.3. ANTIARTHROTIKA

Das Ziel einer Arthrose-Behandlung ist die Unterdrückung entzündlicher Prozesse und die Verhinderung des Fortschreitens der degenerativen Gelenkveränderungen. Mit den gegenwärtig verfügbaren Antiphlogistika, die sowohl entzündungshemmend als auch analgetisch wirksam sind, kann eine deutliche Besserung der Symptome erreicht werden. Außerdem werden sogenannte Chondroprotektiva gegeben, die in das gestörte Gleichgewicht zwischen Abbauprozessen und Regeneration des Gelenkknorpels eingreifen. Die Anforderungen an antiarthrotische Wirkstoffe sind in Tab. 40 zusammengefaßt.

Tabelle 40 : Anforderungen an antiarthrotische Wirkstoffe

WIRKUNGEN AUF DEN ENTZÜNDUNGSPROZESS (SYNOVITIS)
Unterdrückung der Progredienz und Beeinflussung der aktuten Entzündung sowie des Schmerzes durch:

- Unterdrückung der Entstehung von Entzündungsmediatoren
- Hemmung der Freisetzung von reaktiven Sauerstoffradikalen
- Inhibition lysosomaler Enzyme (Proteasen, Kollagenasen)

WIRKUNGEN AUF DEN ARTIKULÄREN KNORPELSTOFFWECHSEL
Verlangsamung oder Unterbrechung des degenerativen Prozesses, Eingriff in das gestörte Gleichgewicht zwischen Abbau und Regeneration des Knorpelgewebes durch:

- Hemmung kataboler Prozesse
- Stimulation anaboler Prozesse
- Verbesserung der Nährstoff-Zufuhr der Knorpelzellen

Für die Basistherapie der Arthrosen steht heute eine Reihe von Substanzen mit möglicher oder postulierter antiarthrotischer Wirkung zur Verfügung.
Die nachstehende Zusammenfassung ist einer Arbeit von KALBHEN (99) entnommen.

Tabelle 41: Antiarthrotika, bzw. Substanzen mit möglicher oder postulierter antiarthrotischer Wirkung

Name	Wirksubstanzen
Arteparon^{R}	Glykosaminoglykanpolysulfat (GAGPS)
Arumalon ^{R} (Rumalon^{R})	Glykosaminoglykan-Peptid-Komplex (DAK-16)
Dona^{R} 200-S	D-Glucosaminsulfat
Structum^{R}	Chondroitinsulfat
Probaphen^{R}	Pentosanpolysulfat (SP-54)
Glyvenol^{R}	Tribenosid(Furanosid-Derivat)
Oxaceprol	N-Acetyl-Hydroxy-Prolin (AHP)
Ney Arthros^{R}	Organextrakte (Knorpel,Gelenk,Synovialgewebe)
Gerontamin^{R}	Retinolacetat, Cystin, Gelatine

Wie von KALBHEN und Mitarbeitern in einer Reihe von tierexperimentellen Untersuchungen gezeigt wurde, können chondroprotektive Substanzen wie zum Beispiel Glykosaminoglykanpolysulfat und DAK-16 die knorpelschädigenden Wirkungen verschiedener steroidaler und nichtsteroidaler Antiphlogistika vermindern (Übersicht in KALBHEN (96)). Nicht eindeutig geklärt ist aber bisher, ob die knorpelschützende Wirkung dieser Substanzen auf die Stimulation anaboler Stoffwechselprozesse zurückzuführen ist oder ob die Wirkung über eine Hemmung kataboler Enzyme zustande kommen.In den meisten Studien mit GAGPS wird der Hemmung kataboler Enzyme der Vorzug gegeben und erst in zweiter Linie stimulatorischen Effekten (9,66,69,118,119,190,198).

Der von KALBHEN et al. (105) isolierte Glykosaminoglykan-Peptid-Komplex DAK-16 stimuliert anabole Prozesse bei gleichzeitiger Inhibition kataboler Reaktionen (10,45,103,105,109,111,182,200).

Oxaceprol scheint demgegenüber hauptsächlich über die Steigerung anaboler Stoffwechselprozesse zu wirken (37,145).

Die vorliegende Arbeit wurde unter anderem mit dem Ziel durchgeführt, einen Beitrag zur Aufklärung der Wirkungsweise von Glykosaminoglykanpolysulfat (GAGPS), Glykosaminoglykan-Peptid-Komplex (DAK-16), N-Acetyl-hydroxyprolin (Oxaceprol) und Pentosanpolysulfat mit Hilfe histoautoradiographischer Methoden zu leisten. Der in unseren Versuchen sowohl in vitro als auch nach intraartikulärer GAGPS-Gabe erbrachte Nachweis einer ausgeprägten stimulatorischen Wirkung von GAGPS auf den Einbau von radioaktivem Glucosamin, zeigt eine gute Übereinstimmung mit den zahlreichen tierexperimentellen und klinischen Erfahrungen mit Arteparon^{R}, (Literaturübersicht bei KALBHEN (97)).
Die Arbeiten zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus zeigten folgende biochemische und molekulare Angriffspunkte:

- Inhibition der am Proteoglykanabbau beteiligten Enzyme wie β-Glukuronidase, β-N-Acetylglucosaminidase, Hyaluronat-Glykanohydrolase (GREILING (65,66,71)),GREILING UND KANEKO (108),

- Inhibition der lysosomalen Elastase und des Kathepsin B 1 (BAICI et al. (9), KRUZE et al. (118)),

- Steigerung des Hyaluronat- und Proteoglykanstoffwechsels der Chondrozyten und synovialen Deckzellen (ADAM et al. (1), VON DER MARK (134), MOMBURG et al. (146)),

- sowie die weiteren von GREILING (67,68) in einer Übersicht zusammengestellten Angriffspunkte: Hemmung der Aminoacyl-t-RNS und m-RNS.

Im Gegensatz zu KLEESIEK et al. (114),die in Monolayerkulturen eine Steigerung des Glucosamineinbaus in die Gesamt-GAG und die GAG des Extrazellulärraums beobachteten,fanden wir in unseren In-vitro-Versuchen bei GAGPS-Konzentrationen zwischen 10^{-6} und 10^{-4} mol/l(≙ 0,01 mg - 1,00 mg/ml) nur eine signifikante Erhöhung der extrazellulären Radioaktivität (SDI), während die zelluläre Einbaurate (gpc und SDC) hochsignifikant ($p < 0,001$) abnahm.
Die höchste Einbaurate wurde mit der niedrigsten GAGPS-Konzentration erhalten. Der Anteil der radioaktiv markierten Chondrozyten (LI %) nahm konzentrationsabhängig zu. Daher vermuten wir, daß die Erniedrigung der intrazellulären Radioaktivität auf einen Verdünnungseffekt durch den Zusatz von GAGPS zum Inkubationsmedium mit entsprechenden Konsequenzen für die Diffusion in den Knorpel zurückzuführen ist. (GAGPS-Konzentration > ^{3}H-Glucosamin-Konzentration). Unsere Vermutung wird durch das Fehlen eines solchen Effektes nach In-vivo-Applikation des GAGPS und durch die Beobachtung des gleichen Phänomens im Experiment mit DAK-16 bestätigt.
In den Versuchen mit Pentosanpolysulfat trat ein solcher Effekt nicht in Erscheinung; allerdings lagen die Pentosanpolysulfatkonzentrationen auch jeweils um eine Zehnerpotenz tiefer.
Intraartikulär appliziertes GAGPS führte zu einer starken Stimulation der ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in das zelluläre und extrazelluläre Kompartiment. Der um 188,37 % erhöhte Präkursoreinbau in die Matrix kann als das Resultat einer gesteigerten Synthese neben einem verzögerten lysosomalen Abbau angesehen werden. Dieser Untersuchungsbefund steht in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen von ADAM et al. (1) und KLEESIEK et al. (114).
Der Anteil der extrazellulär gebundenen Radioaktivität nimmt von der Oberfläche zur Tiefe des Knorpels hin zu. Es ist eine interessante Feststellung, daß die größten ^{3}H-Glucosamin-Inkorporationsraten in den Knorpelzonen ermittelt werden, in denen im Experiment mit ^{3}H-Arteparon die geringsten Arteparon-Konzentrationen nachgewiesen wurden. Darin sehen wir eine weitere Bestätigung der vermuteten glockenförmigen Dosis-Wirkungskurve des GAGPS: Niedrige Konzentrationen zeigen stimulatorische, hohe Konzentrationen dagegen inhibitorische Wirkungen.

DAK-16

Der von KALBHEN et al. (105) isolierte Glykosaminoglykan-Peptid-Komplex DAK-16 stellt die hochmolekulare Komponente des Knorpel-Knochenmark-Extraktes Arumalon^{R} dar. Die günstige Wirkung bei degenerativen Gelenkerkrankungen ist nach WAGENHÄUSER (199) auf die "Kombination der Effekte unterschiedlicher Wirkungsprinzipien" zurückzuführen. Diese chondrotropen Eigenschaften wurden von KALBHEN (95) als einerseits katabol-inhibitorisch und andererseits als anabol-stimulierend charakterisiert (Literaturübersicht bei KALBHEN (95) und WAGENHÄUSER (199).
Unsere vorliegenden Untersuchungen scheinen diese komplexen Wirkungsqualitäten zu bestätigen. Die nach In-vitro-Inkubation erzielten Steigerungsraten des ^{3}H-Glucosamin-Einbaus in das extrazelluläre Kompartiment sind wesentlich größer als nach GAGPS. Die zellulär fixierte Radioaktivität war in allen von uns geprüften Konzentrationen erniedrigt.

Unter dem Einfluß der intraartikulären Injektionen von DAK-16 kommt es zu einem gesteigerten Einbau von ^{3}H-Glucosamin in das intra- und extrazelluläre Kompartiment. Die Menge der extrazellulär inkorporierten Radioaktivität ist jedoch bedeutend größer. Sie erreicht aber nicht das Ausmaß wie unter GAGPS. Ähnlich wie nach GAGPS-Injektionen werden die höchsten extrazellulären Präkursorkonzentrationen in der Radiärschicht ermittelt.

Unsere Ergebnisse lassen für DAK-16 einen zum Teil anderen Wirkungsmechanismus vermuten als für GAGPS. EHRLICH et al. (51) berichteten 1974 über eine starke stimulatorische Wirkung von Uridindiphosphat (UDP) auf die ^{3}H-Glycin- und $^{35}SO_4$-Aufnahme in den Gelenkknorpel von Kaninchen. Im Zusammenhang mit diesem Ergebnis diskutierten sie, daß die stimulatorischen Eigenschaften des Knorpel-Knochenmark-Extraktes Arumalon^{R} hierin ihre Erklärung finden könnten. Aufgrund unserer Befunde mit DAK-16, der hochmolekularen Komponente des Arumalon^{R}, halten wir diesen Wirkungsmechanismus für sehr unwahrscheinlich.

Pentosanpolysulfat

Pentosanpolysulfat ist ein semisynthetisch hergestellter Polysaccharidester mit linearer Struktur. Die Grundeinheiten bilden Pentosen, die Polymerkette setzt sich aus (1→4) verknüpften β-D-Xylopyranoseresten zusammen. Pro Disaccharideinheit werden im Mittel 3,6 Sulfatreste errechnet; der Schwefelgehalt beträgt 16 %. Mit seinem niedrigen Molekulargewicht von durchschnittlich 3.000 (Grenzen 1.500 - 5.000) steht es den Oligosacchariden nahe und diffundiert durch feinste Membranen. Neigen β-glukosidische Verbindungen an sich schon wenig zu Spiralbildung, wirkt noch die Häufung negativer, sich gegenseitig abstoßender SO_4-Gruppen zusätzlich einer Verknäuelung entgegen und verleiht dem polymeren Molekül relativ steife,bzw. gestreckte Form. In den Untersuchungen von KRUZE et al. (118) über den inhibitorischen Effekt antirheumatischer Substanzen auf Kathepsin B_1 erwies sich Pentosanpolysulfat als ein potenter Inhibitor. Mit einer Konzentration von 10^{-6}mol/l wurden 72 % Enzymhemmung erreicht, während GAGPS nur eine Inhibition von 29 % verursachte. Als Polyanion beeinträchtigt es die Bindung von m-RNS an die Ribosomen und damit die Polypeptidsynthese.

GOLDING und GHOSH (62) schreiben der Substanz eine protektive Wirkung, im Modell der durch Immobilisation erzeugten Arthrose, zu. Wie unsere Untersuchungsbefunde zeigen, übte Pentosanpolysulfat in den Konzentrationen von 10^{-5} - 10^{-4} mol/l (0,01 bzw. 0,10 mg/ml) keinen Einfluß auf die Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den Gelenkknorpel aus. Die niedrigste der getesteten Konzentrationen (10^{-6} mol/l) führte zu einer hochsignifikanten Erhöhung der matrixgebundenen Radioaktivität. Aufgrund des unveränderten Markierungsindex LI % können zytotoxische Effekte auf das Knorpelgewebe ausgeschlossen werden. Pentosanpolysulfat zeigte in keiner der getesteten Konzentrationen nennenswerte Einflüsse auf die intrazelluläre Radioaktivität.

Wir nehmen daher an, daß die gesteigerte Präkursorinkorporation, die wir in unseren Versuchen beobachteten, allein auf einer Hemmung degradativer Enzyme beruht. Für diese Überlegung spricht auch die Beobachtung, daß nur für die niedrigste Pentosanpolysulfatkonzentration in allen Knorpelzonen eine Zunahme der extrazellulären Silberkorndichte nachgewiesen werden konnte, die mit 10^{-6} mol/l der Konzentration entspricht, bei der KRUZE et al. (118) 72 % Inhibition von Kathepsin B_1 ermittelten.

Oxaceprol

Oxaceprol nimmt unter den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Basistherapeutika der Arthrose eine Sonderstellung ein, weil es oral verabreicht werden kann. Sollte sich die postulierte chondroprotektive Wirkung der Substanz bestätigen, so wäre sie für eine Langzeitbehandlung der Arthrose besonders gut geeignet. DIEHL (43) berichtete kürzlich über positive Erfahrungen nach 6-wöchiger Therapie mit Oxaceprol bei 14 Fällen mit einseitiger aktivierter Gonarthrose.

Der in unseren Versuchen unter dem Einfluß von Oxaceprol gegenüber den Kontrollen unverändert gebliebene Markierungsindex LI % läßt erkennen, daß dieses Pharmakon in den verwendeten Konzentrationen keine unmittelbaren zytotoxischen Wirkungen besitzt. Die Aufnahme- und Transportvorgänge im Knorpelgewebe werden anscheinend durch die höhere Oxaceprol-Konzentration beeintächtigt.

Besonders im extrazellulären Kompartiment wird die Einbauhemmung in ihrem vollen Ausmaß sichtbar. Die signifikante Erhöhung des Verteilungsindex VI beruht allein auf einer stärkeren Abnahme der extrazellulären Radioaktivität.
Während die Konzentration von 0,01 mg/ml Oxaceprol weder eine stimulierende noch hemmende Wirkung auf den Einbau von ^{3}H-Glucosamin entfaltet, ist eine Verminderung der zellulären Radioaktivität und damit ein hemmender Einfluß auf die ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme bei der Konzentration von 0,10 mg/ml in vitro erkennbar.

Auch der Einfluß von Oxaceprol auf die ^{3}H-Prolin-Inkorporation in vitro ist nicht völlig eindeutig. Der Anstieg der Silberkorndichte über der Matrix SDI weist auf eine extrazelluläre Anreicherung des ^{3}H-Prolin hin. Die Annahme, daß markiertes Prolin unter Oxaceprol-Einfluß nicht nur in den intrazellulären Aminosäurepool aufgenommen, sondern auch in einem hohen Maße peptidgebunden in den extrazellulären Raum sezerniert wird, ist spekulativ und kann durch unsere Ergebnisse nicht bestätigt werden. Eine stimulatorische Wirkung auf die ^{3}H-Prolin-Inkorporation wird nach kombinierter Inkubation des Knorpels mit Oxaceprol und GAGPS gesehen. Die gleichzeitige Inkubation in einem Medium, das 0,01 mg/ml Oxaceprol und 0,01 mg/ml GAGPS enthält, scheint eine äußerst günstige Wirkung auf die Prolin-Aufnahme zu haben und führt zu einer hochsignifikanten Erhöhung der intra- und extrazellulären Radioaktivität. Da wir für Oxaceprol allein keine eindeutige stimulatorische Wirkung feststellen können, bieten sich zur Erklärung 3 Möglichkeiten an:

1. Der beobachtete Effekt wird allein durch GAGPS erzeugt.

2. Die leichte stimulatorische Wirkung des Oxaceprols auf die Peptidsynthese wird von einer Hemmung kataboler eiweißabbauender Enzyme durch GAGPS ergänzt.

3. Die Oxaceprol-GAGPS-Kombination zeigt eine synergistische Wirkung auf die anabolen Stoffwechselleistungen, gleichzeitig werden katabole Prozesse durch GAGPS gehemmt.

In diesem Falle könnte der Kombination ein anabol-stimulierender und katabol-inhibierender Effekt zugesprochen werden, wie er unter DAK-16 Einfluß zu beobachten ist.

COHEN und DIEGELMANN (37) diskutieren als mögliche Erklärung für die von Ihnen unter Oxaceprol-Einfluß beobachtete Zunahme des ^{14}C-Prolin-Einbaus in Kollagen und nichtkollagenes Protein, neben einem stimulierten Prolintransport und einer reduzierten endogenen Prolinsynthese, eine Steigerung der Peptidsynthese. Unsere In-vitro-Befunde stehen im Gegensatz zu den in der Literatur beschriebenen Wirkungen des Oxaceprol.
Weitere Arbeiten, die zur Klärung der Kontroverse beitragen könnten, stehen zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht zur Verfügung.
Auf die ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme hatte die Oxaceprol-GAGPS-Kombination deutlich negative Auswirkungen.

Wie der unter In-vitro-ex-vivo-Bedingungen mit ^{3}H-Glucosamin ermittelte Markierungsindex LI % erkennen läßt, besitzt Oxaceprol auch nach intraartikulärer Injektion von 0,100 bzw. 0,200 mg keine unmittelbare zytotoxische Wirkung. Nach Gabe von 0,100 mg Oxaceprol kommt es zu einer deutlichen Erhöhung der intrazellulären Radioaktivität (gpc, SDC), die im Sinne eines gesteigerten ^{3}H-Glucosamin-Einbaus gedeutet werden kann.

N-Acetylhydroxyprolin besitzt in niedriger Dosierung eine leichte stimulatorische Wirkung auf die ^{3}H-Glucosamin- und ^{3}H-Prolin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner, bei hoher Dosierung sind hemmende Einflüsse erkennbar. Diese Beobachtung konnte für den ^{3}H-Glucosamin-Einbau in vitro und in vivo bestätigt werden. Die höchsten Einbauraten an ^{3}H-Prolin werden nach der kombinierten Inkubation mit 0,01 mg/ml Oxaceprol und 0,01 mg/ml Arteparon^{R} gefunden. Unter der Kombination ist die Beeinflussung der ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme jedoch negativ.

4.1.4. EINFLUSS VON DAK-16 ODER GAGPS AUF DIE MIT DEXAMETHASON-O-PHOSPHAT EXPERIMENTELL AUSGELÖSTE ARTHROSE

Die negativen Auswirkungen wöchentlich wiederholter Dexamethason-Injektionen auf den Kniegelenkknorpel unserer Versuchstiere waren nach der Präparation der Gelenke zur Knorpelentnahme makroskopisch erkennbar. Die Gelenkflächen - besonders der Tiere, die nur mit dem Kortikoid behandelt worden waren - boten nach 6 Wochen ein leicht aufgerauhtes Erscheinungsbild. Nach 12 Wochen konnten stellenweise geringfügige Fibrillationen und Fissuren festgestellt werden.
Die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in das Knorpelgewebe nahm im Verlauf der Untersuchungen ab, wie ein Vergleich der Einbauraten nach 6 und 12 Wochen Versuchsdauer ergab. Wir interpretieren diesen Befund im Sinne von BEHRENS (13) als Abfall der Proteoglykan-Konzentration aufgrund einer Kortikoid-induzierten Hemmung der chondrozytären Syntheseleistung (KARZEL und DOMENJOZ (110), KARZEL et al. (111)). Die Markierungsindices LI % blieben während des gesamten Beobachtungszeitraumes bemerkenswert konstant. Daraus kann man schließen, daß die knorpelschädigenden Wirkungen des Dexamethason nicht über zytotoxische bzw. zytozide Effekte hervorgerufen werden.
Die gute Übereinstimmung mit unseren Befunden mit Dexamethason in vitro beweist die Eignung der verwendeten Versuchsanordnung zum Nachweis inhibitorischer Einflüsse von Pharmaka auf den Gelenkknorpel.

Die intrazelluläre Radioaktivität gpc und SDC war durch Behandlung mit GAGPS nach 6 und besonders deutlich nach 12 Wochen höher als nach alleiniger Dexamethason-Behandlung. Die Silberkorndichte über der Matrix SDI wurde dagegen unter dem Einfluß von GAGPS nach 6 Wochen um 2,67 % und nach 12 Wochen um 47,30 % vermindert. Wir werten diese Ergebnisse als Zeichen einer gesteigerten Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den zellulären Glucosaminpool bei - in Relation zum kontralateralen Gelenk - beeinträchtigtem Einbau in Glykoprotein-artige Makromoleküle und verminderter Sekretion.

Unter der Voraussetzung, daß - wie wir bereits diskutierten - Kortikosteroide die zelluläre Synthese- und Sekretionsrate von Glykoproteinen zu Lasten der höhermolekularen Proteoglykane erhöhen, läßt die reduzierte extrazelluläre Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin auf eine Normalisierung der anabolen Stoffwechselprozesse der Chondrozyten unter dem Einfluß von GAGPS schließen. Aufgrund der komplizierten Struktur der Proteoglykane und der daraus resultierenden Vielzahl von einzelnen Synthesereaktionen ist es verständlich, daß die Zahl der synthetisierten Moleküle pro Zeiteinheit abnimmt. Eine derart verminderte Syntheseleistung wird im Histoautoradiogramm, das in dem hier diskutierten Fall eine Momentaufnahme der anabolen Stoffwechselsituation am 43. bzw. 85. Versuchstag darstellt, als Zunahme der intrazellulären und Abnahme der extrazellulären Radioaktivität erkennbar.

Während wir nach 6-wöchiger Therapie mit DAK-16 gegenüber den nur mit Dexamethason behandelten Tieren einen erniedrigten Einbau von ^{3}H-Glucosamin im intra- und extrazellulären Kompartiment feststellten, ermittelten wir nach 12 Wochen Versuchsdauer eine signifikante Erhöhung der Radioaktivität in beiden Kompartimenten. Warum die Präkursorinkorporation zunächst abnahm und die anabolstimulierende Wirkung des DAK-16 erst nach 12 Wochen sichtbar wurde, können wir zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht erklären.

Es bleibt zukünftigen Untersuchungen vorbehalten, darzulegen, ob die von uns ermittelte Zunahme des Einbaus von ^{3}H-Glucosamin in Matrixkomponenten im Sinne einer erhöhten extrazellulären Proteoglykan-Konzentration gedeutet werden kann. Elektronenmikroskopische Studien wären in diesem Zusammenhang besonders interessant und könnten zur weiteren Klärung beitragen, indem sie aufzeigten, ob die Kortikoid-induzierten ultrastrukturellen Veränderungen in den Knorpelzellen(kollabiertes Endoplasmatisches Retikulum, Reduktion des Golgi-Komplexes und der Mitochondrien (BEHRENS (12), MOSKOWITZ (147), DEARDEN und MOSIER (41), PRIEST (159), HIGUCHI et al. (78)) durch eine Therapie mit GAGPS und DAK-16 gestoppt, bzw. rückgängig gemacht werden können.

Unsere Untersuchungsbefunde zeigen, daß GAGPS und DAK-16 den hemmenden Einflüssen von Dexamethason auf den anabolen Knorpelstoffwechsel entgegenwirken.

Auch unsere Versuche zum Einfluß einer kombinierten Inkubation von humanem Gelenkknorpelgewebe in einem Dexamethason und GAGPS enthaltenden Medium, die im folgenden diskutiert werden, zeigen dieses Ergebnis.

4.2. BEEINFLUSSUNG HUMANEN KNORPELGEWEBES DURCH STEROIDALE UND NICHTSTEROIDALE ANTIPHLOGISTIKA

Unsere tierexperimentellen Befunde zum Einfluß von Pharmaka auf anabole Prozesse des Knorpelstoffwechsels ließen zum Teil völlig neue Gesichtspunkte erkennen. Es erschien uns daher interessant, einige dieser Resultate an Knorpelproben aus menschlichen Kniegelenken zu überprüfen.
Da die Ergebnisse unserer Tierversuche weder nach zweimaliger intraartikulärer Applikation von Diclofenac-Na im Zeitraum von 4 Tagen noch nach 16 intraartikulären Injektionen im Abstand von 1 Woche keine negative Beeinflussung des Knorpelstoffwechsels durch Diclofenac-Na erkennen ließen, hielten wir dieses Pharmakon für die human-pharmakologische Versuchsreihe besonders geeignet. Unsere Studien zeigten unter dem Einfluß von Diclofenac-Na, ähnlich wie bereits im Tierexperiment, einen hochsignifikant erhöhten ^{3}H-Glucosamin-Einbau in das Knorpelgewebe. Die Inkorporation war dosisabhängig und erfolgte gleichermaßen in den zellulären und extrazellulären Kompartimenten, so daß es zu keiner Änderung der spezifischen Aktivität innerhalb der Verteilungsräume kam.

In unseren Untersuchungen über den Einfluß von nichtsteroidalen Antiphlogistika auf den Stoffwechsel von humanem Knorpelgewebe wurde auch Orgotein mit einbezogen, von dem nach Aussagen des Herstellers bisher keine Arbeiten zum Einfluß auf den anabolen Stoffwechsel vorliegen. Bei diesen In-vitro-ex-vivo-Studien verwendeten wir Orgotein in den Konzentrationen von 0,200 mg/ml und 1,000 mg/ml Inkubationsmedium. Zusätzlich wurden in einer weiteren Versuchsreihe die Auswirkungen einer kombinierten Inkubation des Knorpels in einem Medium, das neben den genannten Orgotein-Konzentrationen noch 0,010 mg/ml GAGPS enthielt, überprüft. Eine nennenswerte Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin nach Inkubation mit Orgotein war nur in der höheren der eingesetzten Konzentrationen erkennbar. Im Gegensatz zu den mit Diclofenac-Na erhaltenen Befunden erfolgte der Einbau bevorzugt in die Chondrozyten, während die extrazelluläre Radioaktivität vermindert wurde.

Bei gleichzeitiger Inkubation des Gewebes mit einem Orgotein und GAGPS enthaltenden Medium fanden wir auch mit der niedrigen Orgotein-Konzentration einen stark erhöhten Präkursoreinbau sowohl in die Zellen, als auch in die Knorpelmatrix. Dieser Befund deutet darauf hin, daß die Verteilung der Radioaktivität zwischen den zellulären und extrazellulären Kompartimenten aufgrund einer gesteigerten biosynthetischen und sekretorischen Aktivität der Chondrozyten nicht beeinflußt wurde.
Obwohl unsere Resultate eine anabol-stimulatorische Wirkung des Orgoteins nicht ausschließen, können sie aber nicht darüber hinwegtäuschen, daß zur gesicherten Beurteilung dieses Pharmakons noch eine Reihe von Details weiterer Aufklärung bedarf.

In einem weiteren In-vitro-Experiment prüften wir die Beeinflussung humanen Knorpelmaterials durch Dexamethason nach Inkubation der Gewebeproben in einem ^{3}H-Glucosamin-haltigen Medium. Ähnlich wie in unseren Versuchen mit Diclofenac-Na zeigten die Ergebnisse eine gute Übereinstimmung mit unseren tierexperimentellen Befunden. Unter dem Einfluß von Dexamethason nahm der Einbau von radiomarkiertem Glucosamin deutlich ab. Die Verminderung der Silberkorndichte über der Matrix SDI war aber größer als die Abnahme der Zellkorndichte SDC. Dieser inhibitorische Effekt des Dexamethason ließ sich durch GAGPS-Zunahme zum Inkubationsmedium nur teilweise kompensieren. Die zelluläre Radioaktivität erreichte unter dem Einfluß von Dexamethason und GAGPS einen Wert, der von der Kontrolle nicht mehr zu unterscheiden war. Der Anteil der extrazellulär gebundenen Präkursormenge SDI wurde durch die kombinierte Inkubation mit Dexamethason und GAGPS von 1,05 $\pm$ 0,042 Körner/100μ^2 auf 1,47 $\pm$ 0,073 Körner/100μ^2 erhöht, blieb aber noch deutlich ($p < 0,05$) unter der Einbaurate der Kontrollen (1,62 $\pm$ 0,086 Körner/100μ^2).

Bei der Interpretation unserer Untersuchungsbefunde an Knorpelproben humanen Ursprungs muß folgendes bedacht werden: Bei den Proben handelt es sich um Biopsiematerial. Der Ort der Entnahme im Gelenk ist deshalb nicht immer der gleiche.

Auch die Probendicke bei der Biopsie ist großen Variationen unterworfen, so daß eine differenzierte Untersuchung nach histologischen Knorpelzonen nicht möglich war. Der Probennahme ging meist eine Entzündung nicht bekannten Ausmasses voraus, die sicher auch unterschiedlich therapiert wurde. Anders als bei intakten Gelenken erfolgt die Diffusion von Substanzen in die Knorpelscheiben nicht analog den physiologischen Gegebenheiten eines Gelenkes von der Oberfläche zu tieferen Knorpelschichten hin. Auch eine Gruppierung unter Berücksichtigung der alters- und geschlechtsspezifischen Gesichtspunkte konnte aufgrund des nur begrenzt zur Verfügung stehenden Knorpelmaterials nicht durchgeführt werden.

Trotz dieser Einschränkungen halten wir die Überraschende Parallelität zu unseren tierexperimentellen Ergebnissen für bemerkenswert.

4.3. LOKALISATION VON RADIOMARKIERTEM MONOJODACETAT UND ^{3}H-ARTEPARON INNERHALB DES KNORPELS

Monojodacetat (MJA) ist nach HOFFMANN-OSTENHOF (81) ein spezieller Hemmstoff der Glykose. Die Wirkung kommt durch Inhibierung SH-haltiger Enzyme zustande und führt zu einer Verminderung oder Hemmung anaboler Stoffwechselprozesse. COELHO und CHRISMANN (36) konnten am Rippenknorpel junger Hunde nachweisen, daß Monojodessigsäure die ^{35}S - Inkorporation erniedrigt, ohne den Verlust an totalem Schwefel zu vermindern. Unter Zusatz von Glutathion war der erste Effekt teilweise reversibel. Das für die Desulfatierung verantwortliche Enzym ist demnach unempfindlich gegenüber dem Inhibitor. ROGER und KALBHEN (166) zeigten, daß Monojodacetat den ATP-Gehalt inkubierten Knorpelgewebes reduziert. Auch in Zellkulturen verminderte die Substanz den Gehalt an energiereichen Phosphaten, wie KALBHEN (94) eindeutig belegen konnte. Der Nachweis für die starke Hemmung der Proteoglykansynthese im Knorpelgewebe wurde von BRÖHR und KALBHEN (21) erbracht. Auf diesen Erkenntnissen beruht das von KALBHEN entwickelte und von KALBHEN und BLUM (100) experimentell bestätigte Modell der chemisch induzierten Arthrose.

Während zum Wirkungsmechanismus des Monojodacetat detaillierte Erkenntnisse vorliegen, ist bislang über das kinetische Verhalten der Substanz im Knorpelgewebe wenig bekannt. Sowohl unsere mit ^{14}C-MJA in vitro als auch die mit ^{3}H-MJA in vivo durchgeführten Versuche zeigen eine starke Anreicherung der Substanz in den Chondrozyten. Die rasche Diffusion von MJA in den Gelenkknorpel ist aufgrund der geringen Molekülgröße nicht weiter erstaunlich. Überraschend ist dagegen die relativ lange Verweildauer innerhalb des Gewebes. Sie wird nur über eine kovalente Bindung an intra- und extrazelluläre nichtdialysierbare Makromoleküle verständlich. Dabei kann es sich aufgrund der Verteilungsmusters nicht allein um die oben erwähnten SH-haltigen Enzyme handeln.
Die extrazelluläre Radioaktivität ist insgesamt bemerkenswert hoch, verwundert aber besonders in den oberen Knorpelzonen der Tangential- und Intermediärschicht. Es ist möglich, daß nur ein Teil der Substanz als freies MJA unmittelbar nach intraartikulärer Injektion in die tiefen Knorpelschichten diffundiert, während sich der Rest, nach Bindung an größere Moleküle in der Synovialflüssigkeit oder in der Knorpelmatrix, langsamer in dem Gewebe verteilt. Dies würde gut mit der bis zu 8 Stunden post injectionem zu beobachtenden relativen Anreicherung des MJA in den Zellen der intermediären Knorpelzone Z II b übereinstimmen. Die erhöhte Silberkorndichte in diesem Knorpelbereich kann auch als ein Indiz dafür angesehen werden, daß hier besonders metabolisch aktive Chondrozyten anzutreffen sind. Obwohl wir die intrachondrale Verweildauer des Monojodacetats nur bis zu 24 Stunden verfolgt haben, ist aufgrund des Verteilungsmusters während dieser Zeitspanne und der noch hohen radioaktiven Konzentration innerhalb des Gewebes am Ende der Beobachtungsperiode anzunehmen, daß der lineare Kurvenverlauf in Abb. 47 sich auch weiterhin fortsetzt. Daraus resultiert eine intrachondrale Verweildauer von mehr als 40 Stunden.

Die Aufnahme von radioaktivem Arteparon in den Gelenkknorpel ist in mehreren Arbeiten beschrieben worden. Infolge der fehlenden Blutgefäße ist die Ernährung des Knorpels von Diffusionsvorgängen aus dem Synovialgewebe und der Synovialflüssigkeit abhängig. Das Ausmaß der Diffusion wird neben der Molekülgröße von der Struktur und der elektrischen Ladung sowohl der aufzunehmenden Substanz als auch der Matrixbestandteile bestimmt. Da der Gelenkknorpel negativ geladen ist (188), überrascht die beschriebene Inkorporation des Polyanions GAGPS in den Gelenkknorpel via diffusionem.
IWATA und KANEKO (89) zeigten die Aufnahme von Glykosaminoglykanpolysulfat in den Gelenkknorpel und den Meniskus des Kaninchenknies nach intraartikulären Injektionen. Dieselben Autoren konnten auch autoradiographisch GAGPS im Gelenkknorpel der Ratte nach intramuskulärer und intraartikulärer Injektion nachweisen (90).
PANSE und Mitarbeiter (155) untersuchten die GAGPS-Konzentrationen nach intramuskulärer Injektion von ^{3}H-GAGPS in Synovia und Knorpel beim Kaninchen. Hierbei zeigte sich, daß die Synovialmembran keine wesentliche Schranke bei der Verteilung des Pharmakons darstellt.
Wie ENISLIDIS (54) darlegte,wird Tritium-markiertes GAGPS beim Menschen nach intraartikulärer Injektion sehr rasch in das arthrotische Knorpel- und Kapselgewebe einlagert. Die gute Durchlässigkeit der Synovialmembran für Arteparon konnten GALLACCHI et al.(60) und in jüngster Zeit MÜLLER et al. (148) auch beim Menschen nachweisen.

Um zu zeigen, daß auch tatsächlich das Tritium-markierte Arteparon aufgenommen wurde, und nicht eine Austauschreaktion zwischen Tritium und Wasserstoff stattgefunden hat, inkubierten GREILING und KANEKO (69) Kälberkorneen mit ^{3}H-Arteparon und wiesen das radiomarkierte GAGPS spannungselektrophoretisch in den Papain-verdauten Korneen nach.

Unsere Befunde bezüglich der Aufnahme von GAGPS in den Gelenkknorpel stimmen mit den zitierten Arbeiten überein. Das dort ebenfalls beschriebene Konzentrationsgefälle im Knorpel von den oberflächlichen zu den tieferen Knorpelschichten können wir nur für die extrazellulär gebundenen GAGPS-Anteile bestätigen. Intrazellulär steigt die Konzentration an GAGPS von der Tangentialschicht bis zu Zone Z II c der Intermediärschicht und fällt dann in der Radiärschicht sehr stark ab. Auch IWATA und KANEKO (90) sahen bei ihren autoradiographischen Untersuchungen an der Ratte innerhalb und außerhalb der Zellen eine Schwärzung, die sie als Affinität des GAGPS zur Zellmembran und zum Bereich zwischen den Chondrozyten interpretierten. Leider untersuchten sie das Verhältnis von intrazellulärer zu extrazellulärer Radioaktivität nicht im Detail. Die in ihren Experimenten schon nach drei Stunden deutlich erkennbare GAGPS-Inkorporation, auch in die tiefliegenden Schichten des Rattenknorpels nach einmaliger Injektion in das Kniegelenk, stellt eine weitere Analogie zu unseren Befunden dar. Unsere zonale Analyse der intra- und extrazellulären Radioaktivität deutet darauf hin, daß die von ENISLIDIS (54), MÜLLER et al. (148) und GALLACCHI et al. (60) beschriebene Verminderung des GAGPS-Einbaus von den oberflächlichen zu den tieferen Knorpelschichten nicht allein durch die verlängerte Diffusionsstrecke und erschwerte Diffusionsbedingungen erklärt werden kann, sondern eher auf eine verminderte Bindung des GAGPS in den Bereichen des hypertrophen Knorpels zurückzuführen ist. Möglicherweise geht GAGPS mit einigen Makromolekülen eine Verbindung ein, zu deren Synthese bzw. Sekretion in den Extrazellulärraum die Chondrozyten der Radiärschicht nicht befähigt sind.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß GAGPS von der Knorpelzelle selbst aufgenommen wird und wahrscheinlich auch aktiv am Zellstoffwechsel teilnimmt. Es ist nicht auszuschließen, daß ein Teil des intrazellulären GAGPS auch in den Lysosomen akkumuliert. Zusätzlich erfolgt eine extrazelluläre Bindung an Matrixkomponenten. Ob es sich dabei um proteoglykanartige Makromoleküle oder um affine Stellen der Kollagenfibrillen handelt, bleibt noch zu klären. Auch an extralysosomale Enzyme sollte in diesem Zusammenhang gedacht werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Degenerative Gelenkerkrankungen hängen kausal mit Störungen des Gleichgewichtes zwischen auf- und abbauenden Prozessen im Knorpelgewebe zusammen. Zum Verständnis arthrotischer Gewebsveränderungen sind eingehende Studien über die Stoffwechselleistungen der Chondrozyten notwendig.
Pharmakologische und klinische Untersuchungen haben gezeigt, daß Pharmaka mit entzündungshemmenden und/oder antidegenerativen Eigenschaften unterschiedliche Einflüsse auf das Knorpelgewebe entfalten.

Ziel und Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, auf biochemischem Wege mit Hilfe mikroautoradiographischer Verfahren tiefere Einblicke in die synthetischen Leistungen der Knorpelzellen mit und ohne Beeinflussung durch Pharmaka zu gewinnen. Hierbei sollte insbesondere der Einfluß verschiedener Arzneimittel und Wirkstoffe auf die Inkorporation von radioaktiv markierten Bausteinen der Knorpelmatrix (Glucosamin, Prolin und Sulfat) in gesundes und arthrotisches Knorpelgewebe untersucht werden. Gleichzeitig wollten wir die Wirkung verschiedener Antiphlogistika und einiger in der Arthrosetherapie verwendeter Substanzen auf den anabolen Stoffwechsel des Knorpels erfassen.

Für unsere Untersuchungen verwendeten wir die freipräparierten, intakten Femurkondylen der Kniegelenke adulter Hühner sowie menschliches Gelenkknorpelgewebe, das anläßlich operativer Eingriffe (Meniskektomien) aus dem rechten oder linken medialen Kondylus entnommen wurde.
In unsere In-vitro-Studien (Inkubationszeit: 3h, Inkubationsmedium: Modifizierte Krebs-Ringer-Bicarbonatlösung) bezogen wir folgende Pharmaka ein: Natrium-Monojodacetat (MJA), Diclofenac-Na, Indometacin, Natrium-Salicylat, Dexamethason-o-phosphat, Orgotein, Glykosaminoglykan-Peptid-Komplex (DAK-16), Glykosaminoglykanpolysulfat (GAGPS), Oxaceprol und Pentosanpolysulfat. In entsprechender Versuchsanordnung wurde weiterhin nach In-vivo-Applikation der Einfluß von Diclofenac-Na, Fenbufen, Indometacin,

Natrium-Salicylat, Dexamethason-o-phosphat, Triamcinolon-hexaacetonid, DAK-16, GAGPS und Oxaceprol auf die anabolen biosythetischen Leistungen der Chondrozyten untersucht. Außerdem wollten wir die Verteilung und Lokalisation von ^{3}H-Monojodacetat, ^{14}C-Monojodacetat und ^{3}H-Arteparon (GAGPS) innerhalb des Knorpelgewebes ermitteln.

Die Autoradiographie wurde sowohl mit den radiomarkierten Präkursoren des Glykosaminoglykanstoffwechsels ^{3}H-Glucosamin und ^{35}S-Sulfat als auch mit einem Präkursor des Kollagenstoffwechsels ^{3}H-Prolin durchgeführt (radioaktive Konzentration 2,5 µCi, Expositionszeit 14d). Zur topographisch-quantitativen Erfassung der anabolen Stoffwechselprozesse der Knorpelzellen adaptierten wir eine autoradiographische Methodik und überprüften in umfangreichen Vorversuchen deren Verwendbarkeit für unsere Fragestellung. Hinsichtlich der quantitativen Auswertung wurden von uns neue optimale und standardisierte Versuchsbedingungen erarbeitet, die reproduzierbare Werte gewährleisten. Die mikroskopische Auswertung der Autoradiogramme erfolgte unter Berücksichtigung der histologischen Schichtung des Gelenkknorpels in Tangential-, Intermediär- und Radiärzone. Die Inkorporation der radioaktiven Substanzen in synthetisch aktive Zellen oder Matrixkomponenten quantifizierten wir über eine optimierte, visuelle Silberkornzählung mit nachfolgender statistischer Analyse und faßten nach Korrektur des autoradiographischen Backgrounds das umfangreiche Datenmaterial zu folgenden Parametern zusammen: Markierungsindex LI %, Silberkorndichte über der Zelle SDC, mittlere Kornzahl pro Zelle gpc, Silberkorndichte über dem Interstitium SDI und Verteilungsindex VI. Erstmalig wurde damit ein über die bisherige Aussagefähigkeit der Autoradiographie hinausgehender reproduzierbarer und quantifizierbarer Auswertungsmodus zur differenzierten Untersuchung der Einflüsse von Pharmaka auf den Knorpelstoffwechsel geschaffen.

Die bekannten stoffwechselinhibitorischen Eigenschaften des Natrium-Monojodacetat wurden in unseren Versuchen besonders deutlich, da es die Aufnahme und den Einbau der Präkursoren des Glykosaminoglykanstoffwechsels (^{3}H-Glucosamin und ^{35}S-Sulfat) sowie des Kollagenstoffwechsels (^{3}H-Prolin) in den Gelenkknorpel stark verminderte.
Während die nichtsteroidalen Antiphlogistika Indometacin und Natrium-Salicylat in vitro konzentrationsabhängig den Einbau von ^{3}H-Glucosamin in den Gelenkknorpel gesunder Hühner signifikant erniedrigten, zeigten diese Pharmaka in vivo 3 Tage nach intraartikulärer Applikation divergierende Einflüsse. Indometacin führte zu einer starken Erhöhung der extrazellulär gebundenen Präkursormenge, Natrium-Salicylat hingegen erniedrigte die Silberkorndichte über der Matrix und erhöhte die intrazelluläre Radioaktivität.
Die in der Literatur beschriebenen Wirkungen von Indometacin auf den Knorpelstoffwechsel bestätigen unsere Versuchsergebnisse, wonach hohe Indometacin-Konzentrationen unter In-vitro-Bedingungen zu einer Hemmung, niedrige Konzentrationen zu einer Stimulation der Glykosaminoglykansynthese führen.
Unsere Befunde mit Na-Salicylat weisen auf eine ausgeprägte inhibitorische Wirkung der Substanz auf das Bindegewebe hin, wie sie auch von zahlreichen Autoren beschrieben wurde.

Nach 2 intraartikulären Injektionen von 1 mg Diclofenac-Na im Abstand von 3 Tagen, sowie nach 16 wöchentlichen Injektionen von 2 mg Diclofenac-Na in die Kniegelenke gesunder Versuchstiere konnten wir anhand aller geprüften histoautoradiographischen Daten keine inhibitorischen Effekte, sondern eine deutliche Steigerung der Zelleistungen registrieren. Die Anreicherung des Präkursors (^{3}H-Glucosamin) im zellulären Kompartiment trat besonders deutlich hervor. Diclofenac-Na zeigte somit bereits nach 4 Tagen eine starke stimulatorische Wirkung auf die Proteoglykansynthese, die auch nach einer 16 Wochen dauernden intraartikulären Applikation des Pharmakons nachgewiesen und hier zum ersten Male autoradiographisch quantifiziert wurde. Unsere Ergebnisse stehen im Einklang mit den Befunden anderer Autoren zum Einfluß von Diclofenac-Na auf die Spontanarthrose von C-57-black-Mäusen.

Die im wöchentlichen Abstand applizierten 12 intraartikulären Injektionen von 0,5 mg Fenbufen zeigten keine mit unserer Methodik erkennbaren Wirkungen auf die chondrozytären Stoffwechselprozesse. Nach Applikation von 2 mg Fenbufen fanden wir bei sonst identischen Versuchsbedingungen einen gesteigerten intra- und extrazellulären ^{3}H-Glucosamin-Einbau. Die Zunahme der inkorporierten Radioaktivität ohne Änderung des Verteilungsindex kann als Hinweis für eine erhöhte Syntheseleistung der Chondrozyten sowie für eine gesteigerte Sekretion von radiomarkierten Makromolekülen in die Matrix gelten.

Die von uns untersuchten chondroprotektiven Pharmaka wurden in vitro und mit Ausnahme des Pentosanpolysulfat nach intraartikulärer Applikation bezüglich ihres Einflusses auf die anabolen Stoffwechselprozesse des Gelenkknorpels überprüft.
GAGPS, Pentosanpolysulfat und DAK-16 führten in vitro übereinstimmend zu einer Erhöhung des extrazellulär gebundenen ^{3}H-Glucosamin. Dabei zeigte die jeweils niedrigste Konzentration die größten Effekte. Nach 2 intraartikulären Injektionen von GAGPS im Abstand von 3 Tagen fanden wir die Silberkorndichte über den Chondrozyten, besonders aber über der Matrix erhöht.
Unter dem Einfluß von DAK-16 wurden ähnliche Resultate erzielt, wobei die zellulär gebundene Präkursormenge gegenüber den Kontrollen deutlicher zugenommen hatte.

Niedrig dosiertes Oxaceprol steigerte in vitro die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in die Knorpelzellen, hohe Konzentrationen führten dagegen zu einer Verminderung. Auch der Einbau von ^{3}H-Prolin in die Matrix wurde erhöht, woraus auf eine stimulatorische Wirkung auf die Kollagensynthese geschlossen werden kann.
Nach Inkubation der Gelenke in einem Oxaceprol und GAGPS enthaltenden Medium ergab die histoautoradiographische Untersuchung eine Abnahme des ^{3}H-Glucosamin-Einbaus und eine starke Erhöhung der ^{3}H-Prolin-Inkorporation in das artikuläre Knorpelgewebe. Intraartikulär appliziertes Oxaceprol führte zu einer Anreicherung des radiomarkierten Glucosamin in den Chondrozyten.

Unsere Untersuchungen mit GAGPS und DAK-16 bestätigen sowohl in vitro als auch nach intraartikulärer Gabe in eindeutiger Weise die komplexen Wirkungsqualitäten dieser Substanzen, die als einerseits katabol-inhibitorisch und andererseits anabol-stimulierend charakterisiert wurden. Die vorliegenden Ergebnisse unterstützen die Vermutung einer glockenförmigen Dosis-Wirkungskurve dieser Chondroprotektiva.Eine ähnliche Dosis-Wirkungsbeziehung ist für Oxaceprol denkbar. Die hochsignifikante Erhöhung der matrixgebundenen Radioaktivität unter dem Einfluß von Pentosanpolysulfat führen wir auf die in der Literatur beschriebene starke Hemmung degradativer Enzyme zurück.

Dexamethason-o-phosphat bewirkte in vitro eine dosisabhängige Erniedrigung des ^{3}H-Glucosamin-Einbaus in gesunden Kniegelenkknorpel, die aufgrund der nur unwesentlich veränderten Markierungsindices LI % nicht über zytozide Effekte hervorgerufen wird.
Erstmalig konnten wir mit der vorliegenden Versuchsanordnung demonstrieren, in welchem Ausmaß die durch Dexamethason-o-phosphat verminderte Präkursor-Inkorporation in das Knorpelgewebe kompensiert werden kann, wenn die betroffenen Gelenke gleichzeitig mit 0,1 mg GAGPS, bzw. 0,1 mg DAK-16 therapiert wurden: GAGPS veränderte die Verteilung der inkorporierten Radioaktivität zugunsten des zellulären Kompartimentes, DAK-16 führte zu einem gesteigerten Einbau von ^{3}H-Glucosamin in zelluläre und extrazelluläre Strukturen oder Makromoleküle. Beide Chondroprotektiva vermögen einer Beeinträchtigung der anabolen Stoffwechselprozesse der Knorpelzellen durch Dexamethason entgegenzuwirken.

Nach 2 intraartikulären Injektionen von je 0,5 mg Triamcinolonhexaacetonid im Abstand von 3 Tagen erhöht sich der Einbau von ^{3}H-Glucosamin in nichtdialysierbare Matrixkomponenten der stoffwechselaktiven Intermediärschicht. Wir deuten die starke Zunahme der extrazellulären Radioaktivität als Inkorporation des Präkursors in neutrale Glykoproteine anstatt in Proteoglykane und damit als negative Beeinflussung des Proteoglykanstoffwechsels.

Eine solche Interpretation der Untersuchungsbefunde, die durch eine Reihe von in der Literatur beschriebenen elektronenoptischen, ultrastrukturellen Beobachtungen unterstützt wird, führt die knorpelschädigenden Wirkungen der Glukokortikoide auf eine reduzierte Synthese der Proteinbindungsregion im Verlauf der Proteoglykansynthese zurück.

Interessant und bemerkenswert ist die gute Übereinstimmung unserer tierexperimentellen Befunde mit den Ergebnissen an humanem Knorpelgewebe. Diclofenac-Na steigerte den Einbau von ^{3}H-Glucosamin, Dexamethason-o-phosphat verminderte die Inkorporationsrate in zelluläre und extrazelluläre Strukturen. Die beobachteten inhibitorischen Wirkungen des Glukokortikoids wurden auch unter diesen Versuchsbedingungen durch GAGPS kompensiert.
Die von uns erstmalig durchgeführten Untersuchungen über den Einfluß von Orgotein auf die biosynthetischen Leistungen des Knorpelgewebes lassen eine Zunahme der zellgebundenen Radioaktivität und eine Abnahme des matrixgebundenen ^{3}H-Glucosamin erkennen. Wurden die Knorpelproben in einem Medium inkubiert, das Orgotein und GAGPS enthielt, nahmen die zelluläre und extrazelluläre Silberkorndichte gleichermaßen zu.

Sowohl unsere mit ^{14}C-Monojodacetat in vitro als auch die mit ^{3}H-Monojodacetat in vivo durchgeführten Verteilungsstudien zeigten eine starke Anreicherung der Substanz in den Chondrozyten. Die intrachondrale Verweildauer von mehr als 40 Stunden wird über eine kovalente Bindung an intra- und extrazelluläre,nichtdialysierbare Makromoleküle verständlich. Da es sich hierbei auch um SH-haltige Enzyme handeln kann, werden die postulierten enzyminhibitorischen Eigenschaften des Monojodacetat bestätigt. Übereinstimmend mit den in der Literatur zitierten Befunden konnten wir mit der vorliegenden Versuchsanordnung demonstrieren, daß ^{3}H-Arteparon (GAGPS) ungeachtet seines hohen Molekulargewichtes von den Knorpelzellen aufgenommen wird. Zusätzlich erfolgt eine extrazelluläre Bindung an Matrixkomponenten. Ob es sich dabei um proteoglykanartige Makromoleküle, um affine Stellen der Kollagenfibrillen oder um lysosomale Enzyme handelt, bleibt noch zu klären.

Unsere tierexperimentellen und an menschlichem Knorpelgewebe durchgeführten Studien sind als Beitrag zum besseren Verständnis der Wirkungsweise der untersuchten steroidalen und nicht-steroidalen Pharmaka sowie der sogenannten Antiarthrotika zu verstehen. Die von uns erhobenen Befunde sind geeignet, tiefere Einblicke in die molekularen Angriffspunkte und biochemischen Wirkungsmechanismen der geprüften Substanzen zu gewähren und deren modulatorische Effekte auf den Proteoglykanstoffwechsel aufzuzeigen.

6. LISTE DER VERWENDETEN ABKÜRZUNGEN

ADP	= Adenosindiphosphat
APS	= Adenosinphosphosulfat
AS	= Aminosäure
ASn	= Asparagin
ATP	= Adenosintriphosphat
B	= Background
CS	= Chondroitinsulfat
DAK-16	= Glykosaminoglykan-Peptid-Komplex
Fru	= Fructose
GAG	= Glykosaminoglykan
GAGPS	= Glykosaminoglykanpolysulfat
Gal	= Galaktose
Galam	= Galaktosamin
GDP	= Guanidindiphosphat
Glc	= Glucose
Glcam	= Glucosamin
GlcNAc	= N-Acetylglucosamin
GlcUR	= Glukuronsäure
gpc	= mittlere Silberkornzahl pro Zelle
HA	= Hyaluronsäure
HR	= Halbradius; Radius des Kreises um ein radioaktives Molekül,der 50 % der von dieser Strahlenquelle in einer Photoemulsion erzeugten Silberkörner enthält
KS	= Keratansulfat
LI %	= "labelling index"; Markierungsindex in %; Anteil radiomarkierter Zellen in einer definierten Zellpopulation
Man	= Mannose
MG	= Molekulargewicht
MJA	= Monojodacetat
m-RNS	= messenger - Ribonucleinsäure
NAc	= N-Acetyl
NAcGalam	= N-Acetylgalaktosamin
NSAID	= nichtsteroidale Antiphlogistika/Antirheumatika

PAP	= Phospho-Adenosinphosphat
PAPS	= Phospho-Adenosinphosphosulfat (aktiviertes Sulfat)
PentosanPS	= Pentosanpolysulfat
PG	= Proteoglykan
SD	= Silberkorndichte; Silberkornzahl pro Flächeneinheit
SDB	= Background-Silberkorndichte
SDC	= Silberkorndichte Zellen
SDI	= Silberkorndichte Interstitium
t-RNS	= transfer-Ribonucleinsäure
UDP	= Uridindiphosphat
VI	= Verteilungsindex; Quotient aus Silberkorndichte Zellen und Silberkorndichte Interstitium
Xyl	= Xylose
ZI	= Meßbereich Zone I; der Tangentialschicht des Knorpels entsprechend
ZII	= Meßbereich Zone II; der Intermediärschicht des Knorpels entsprechend
ZIII	= Meßbereich Zone III; der Radiärschicht des Knorpels entsprechend

7. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1 ADAM, M., KRABCOVA, M., MUSILOVA, J., PESAKOVA, V., BRETTSCHNEIDER, I. and DEYL, Z.: Contribution to the mode of action of glycosaminoglycan-polysulphate (GAGPS) upon human osteoarthrotic cartilage.
Arzneimittelforsch. 30, 1730-1732 (1980)

2 ALARCON-SEGOVIA, D. and WARD, L.E.: Marked destructive changes occurring in osteoarthritic finger joints after intra-articular injection of corticosteroids.
Arthrit. Rheumat. 9, 443-463 (1966)

3 AMADO, R.: Zur Chemie der Mucopolysaccaride.
Lebensm.-Wiss. u. Technol. 6, 1-6 (1973)

4 ANNEFELD, M.: Der Chondrozyt, das lebende Element des Gelenkknorpels. In: Gelenkknorpel und Arthrose
Documenta Geigy 1982, p 29-40

5 APPLETON, T.C.: Resolving power, sensitivity and latent image fading of soluble-compound autoradiographs.
J. Histochem. Cytochem. 14, 414-420 (1966)

6 ASBOE-HANSEN, G., LEVI, H., NIELSEN, A. and WEIS BENTZON, M.: Premitotic uptake of tritiated thymidine by mast cells.
Acta path. microbiol. scand. 63, 533 (1965)

7 ATTRAMADAL, A.: Preparation of tissues for localization of sex hormones by autoradiography I. Loss of radioactive material effected by the use of some conventional methods.
Histochemie 19, 64-74 (1969)

8 BACHMANN, L. and SALPETER, M.M.: Autoradiography with the electron microscop.
Lab. Invest. 14, 1041-1053 (1965)

9 BAICI, A., SALGAM, P., FEHR, K. and BÖNI, A.: Inhibition of human elastase from polymorphonuclear leucocytes by a glycosaminoglycan polysulfate (Arteparon R).
Biochem. Pharmacol. 29, 1723-1727 (1980)

10 BAICI, A., SALGAM, P., FEHR, K. and BÖNI, A.: Inhibition of human lysosomal elastase by the cartilage bone marrow extract Rumalon R.
Z. Rheumatol. 40, 44-46 (1981)

11 BAYLY, R.J. and WEIGEL, H.: Self-decomposition of compounds labelled with radioactive isotopes.
Nature 188, 384-387 (1960)

12 BEHRENS, F., SHEPARD, N. and MITCHELL, N.: Alteration of rabbit articular cartilage by intra-articular injections of glucocorticoids.
J. Bone Joint Surg. 57-A, 70-76 (1975)

13 BEHRENS, F., SHEPARD, N. and MITCHELL, N.: Metabolic recovery of articular cartilage after intra-articular injections of glucocorticoid.
J. Bone Joint Surg. 58-A, 1157-1160 (1976)

14 BENNINGHOFF, A.: Form und Bau der Gelenkknorpel in ihren Beziehungen zur Funktion. 2. Der Aufbau des Gelenkknorpels in seinen Beziehungen zur Funktion.
Z. Zellforsch. 2, 783-862 (1925)

15 BENTLEY, G. and GOODFELLOW, J.W.: Disorganisation of the knees following intra-articular hydrocortisone injections
J. Bone Joint Surg. 51-B, 498-502 (1969)

16 BIELEFELD, F.W.: Pharmakologische Studien über den Einfluß von intraartikulär appliziertem D-Glukosaminsulfat auf den Verlauf einer experimentellen Arthrose beim Versuchstier.
Diss. Med. Fak. Univ. Bonn 1983

17 BLONDELON, D., ALDOLPHE, M., ZIZINE, L. and LECHAT, P.: Evidence for glucocorticoid receptors in cultured rabbit articular chondrocytes.
FEBS Lett. 117, 195-198 (1980)

18 BOSMANN, H.B.: Cellular control of macromolecular synthesis: rates of synthesis of extracellular macromolecules during and after depletion by papain.
Proc. R. Soc. Lond. B 169, 399 (1968)

19 BRETTSCHNEIDER, I., PRAUS, R., MUSILOVA, J. and ADAM, M.: Effect of some antirheumatics on connective tissue components
Arzneimittelforsch. 26, 846-848 (1976)

20 BROGDEN, R.N., HEEL, R.C., SPEIGHT, T.M. and AVERY, G.S.: Fenbufen: a review of its pharmacological properties and therapeutic uses in rheumatic diseases and acute pain.
Drugs 21, 1-22 (1981)

21 BRÖHR, H. J. und KALBHEN, D. A.: Wirkung verschiedener Antirheumatica auf die Sulfomucopolysaccarid-Synthese im Knorpel.
Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 1976, 380-394 (1968)

22 CAMPBELL, L.A., BAIN, G.O. and MCGREGOR, J.R.: In quest of an erythropoetic function of the adult murine thymus.
Am. J. Physiol. 213, 1269 (1967)

23 CAMPO, R.D. and DZIEWIATKOWSKI, D.D.: Intracellular synthesis of protein-polysaccarides by slices of bovine costal cartilage.
J. biol. Chem. 237, 2729 (1962)

24 CARO, L.G.: Localization of macromolecules in Escherichia coli. I. DNA and proteins.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 9, 539 (1961)

25 CARO, L.G.: High resolution autoradiography: II. The problem of resolution.
J. Cell Biol. 15, 189-199 (1962)

26 CARO, L.G. and FORRO, F.: Localization of macromolecules in Escherichia coli. II. RNA and its site of synthesis.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 9, 555 (1961)

27 CARO, L.G., VAN TUBERGEN, R.P. and KOLB, J.: High resolution autoradiography. I. Methods.
J. Cell Biol. 15, 173-188 (1962)

28 CHANDLER, G.N., JONES, D.T., WRIGHT, V. and HARTFALL, S.J.: Charcot's arthropathy following intra-articular hydrocortisone.
Britisch Med. J. 1, 952-953 (1959)

29 CHANDLER, G.N. and WRIGHT, V.: Deleterious effect of intra-articular hydrocortisone.
Lancet 2, 661-663 (1958)

30 CHEN, T.L., ARONOW, L. and FELDMAN, D.: Glucocorticoid receptors and inhibition of bone cell growth in primary culture.
Endocrinology 100, 619-628 (1977)

31 CHEPHASAAR, St. INGBERT: AHP 200, Wissenschaftliche Information zum Oxaceprol

32 CHERNIK, B. and EVANS, A.:
The frequency distributions of silver grain counts from auto-radiographs.
Experimental Cell Research 53, 94-100 (1968)

33 CHILD, R.G., OSTERBERG, A.C., SLOBODA, A.E. and TOMCUFCIK A.S.: A new non-steroidal anti-inflammatory analgesic: y-oxo-(1,1'-biphenyl)-4-butanoic acid (Fenbufen).
Arzneimittelforsch. 30, 695-701 (1980)

34 CHRISMAN, O.D., SNOOK, G.A. and WILSON, T.C.: The protective effect of aspirin against degeneration of human articular cartilage.
Clin. Orthop. 84, 193-199 (1972)

35 CLAUSS, G. und EBNER, H.: Grundlagen der Statistik für Psychologen, Pädagogen und Soziologen.
Thun, Frankfurt a. Main: Deutsch 1979

36 COELHO, R.R. and CHRISMAN, O.D.: Sulphate metabolism in cartilage.
J. Bone Joint Surg. 42-A, 165-172 (1960)

37 COHEN, K. and DIEGELMANN, R.F.: Effect of N-Acetyl-cis-4-Hydroxyproline on collagen synthesis.
Exp. Mol. Pahtol. 28, 58-64 (1978)

38 COLLINS, D.H.: The pathology of articular and spinal disease.
London: Edward Arnold 1949 p. 74-115

39 COMPER, W.D., DE WITT, M. and LOWTHER, D.A.:
Effects of anti-inflammatory drugs on proteoglycan degradation as studied in rabbit articular cartilage in organ culture.
Biochem. Pharmacol. 30, 459-468 (1981)

40 DAVID, D.S., GRIECO, M.H. and CUSHMAN, P.jr.: Adrenal glucocorticoids after twenty years. A review of their clinically relevant consequences.
J. Chron. Dis. 22, 637-711 (1970)

41 DEARDEN, L.C. and MOSIER, H.D.: The effect of prolonged prednisone treatment on human costal cartilage.
Am. J. Pathol. 81, 267-282 (1975)

42 DEKEL, S., FALCONER, J. and FRANCIS, M.J.O.: The effect of anti-inflammatory drugs on glycosaminoglycan sulphation in pig cartilage.
Postaglandins Med. 4, 133-140 (1980)

43 DIEHL, K.: Arthrose: Der Knorpel muß geschützt werden.
Ärztliche Praxis 80, 2695-2697 (1982)

44 DIEM, K. und LEUTNER, D.: Wissenschaftliche Tabellen.
Documenta Geigy, Wehr 1973 7. Auflage

45 DINNENDAHL, V. und KALBHEN, D.A.: Der autolytische Abbau von Knorpelgewebe und seine pharmakologische Beeinflussung.
Arch. int. Pharmacodyn. 192, 393-414 (1971)

46 DOMENJOZ, R.: Pharmakologie der Antirheumatika.
Verh. Dtsch. Ges. Rheumatol. 1, 343-361 (1969)

47 DÖRMER, P.: Quantitative carbon-14 autoradiography at the cellular level: principles and application for cell kinetic studies.
Histochemical Journal 13, 161-171 (1981)

48 DOUGHERTY, T.F., STEVENS, W. and SCHNEEBLI, G.L.: Functional and morphological alterations produced in target cells by anti -inflammatory steroids.
Rec. Prog. Horm. Res. 29, 287-321 (1973)

49 EGGERT, F.M. and GERMAIN, J.P.: Rapid demineralization in acidic puffers.
Histochemistry 59, 215-224 (1979)

50 EGGERT, F.M., LINDER, J.E. and JUBB, R.W.: Staining of demineralized cartilage 1. Alcoholic versus aqueous demineralization at neutral and acidic pH.
Histochemistry 73, 385-390 (1981)

51 EHRLICH, M.G., MANKIN, H.J., TREADWELL, B.V. and JONES, H.: Uridine diphosphate (UDP) stimulation of protein polysaccharide production.
J. Bone Joint Surg. 56-A, 1239-1245 (1974)

52 ENGLAND, J.M. and MILLER, R.G.: The statistical analysis of autoradiographs, II. Theoretical aspects including methods for optimal allocation of measurement effort.
J. Microsc. 92, 167-177 (1970)

53 ENGLAND, J.M. and ROGERS, A.W.: The statistical analysis of autoradiographs, I. Grain count distributions over uniformly labelled sources.
J. Microsc. 92, 159-165 (1970)

54 ENISLIDIS, A.C.: Gewebeverteilung von Tritium-markiertem Glykosaminoglykanpolysulfat nach intraartikulärer Injektion.
Med. Welt 23, 733-735 (1972)

55 EVANS, E.A.: Control of self-irradiation decomposition of tritium-labelled compounds at high specific activity.
Nature 209, 169-171 (1966)

56 EVANS, E.A.: Purity and stability of radiochemical tracers in autoradiography.
J. Microsc. 96, 165-180 (1971)

57 FELDMANN, H.U.: Indometazin.
Media therapeutica 1, 1-3 (1980)

58 FENNER, H.: Transsynovialkinetik und Dosis-Wirkungs-Korrelation bei nicht-steroidalen Antirheumatika.
Fortschr.Med. 100, 1642-1646 (1982)

59 FITTON-JACKSON, S.: Environmental control of macromolecular synthesis in cartilage and bone: morphogenetic response to hyaluronidase.
Proc. R. Soc. Lond. B 175, 405 (1970)

60 GALLACCHI, G., GÄCHTER, A., DICK, W. und MÜLLER, W.:
Die Einlagerung intramuskulär applizierten Glykosaminoglykanpolysulfats im menschlichen Gelenkknorpel.
Akt. rheumatol. 4, 145-151 (1979)

61 GOGGINS, J.F., JOHNSON, G.S. and PASTAN, J.: The effect of dibutyryl cyclic adenosine monophosphate on synthesis of sulfated aci mucopolysaccarides by transformed fibroblasts.
J. biol. Chem. 247, 5749-5764 (1972)

62 GOLDING, J.C. and GHOSH, P.: Drugs for osteoarthrosis I: The effects of pentosan polysulphate (SP 54) on the degradation and loss of proteoglycans from articular cartilage in a model of osteoarthrosis induced in the rabbit knee joint by immobilization.
Current Therapeutic Res. 33, 173-184 (1983)

63 GOLDSTEIN, D.J. and WILLIAMS, M.A.: Quantitative autoradiography: an evaluation of visual grain counting,reflectance microscopy, gross absorbance measuerements and flying-spot microdensitometry.
J. Microsc. 94, 215-239 (1971)

64 GORMAN, R.R., BUNTING, S. and MILLER, O.V.: Modulation of human adenylate cyclase by prostacyclin (PGX).
Prostaglandins 13, 377-388 (1977)

65 GREILING, H.: Neuere Untersuchungen zur klinischen Biochemie der chronischen Polyarthritiden.
In: F.J. Wagenhäuser (Hrsg.): Polyarthritiden, Bern, Hans Huber 1977 p. 171-184

66 GREILING, H.: Biochemische Untersuchungen zur Wirkungsweise des Arteparon R.
In: Dettmer, N., Greiling, H., SENSCH, K.H. (Hrsg.): Internationales Arzneimittelsymposium Arteparon R. IX. Europäischer Kongreß fuer Rheumatologie, Wiesbaden September 1979
Basel: Eular 1980, p. 11-18 (Congress series)

67 GREILING, H., GRESSNER, A.M., KLEESIEK, K. and STUHLSATZ, H.W.: Biochemical studies on the therapy of osteoarthritis. In: Gastpar, H. (ed.): Biology of the articular cartilage in health and disease: proceedings of the second Munich symposium on biology of connective tissue; Munich, July 23-24, 1979.
Stuttgart, New York: Schattauer 1980, p. 459-465

68 GREILING, H., GRESSNER, A.M. and STUHLSATZ, H.W.: Effects of agents interacting with connective tissue.
Agents Actions 10, 99-109 (1979)

69 GREILING; H. und KANEKO, M.: Die Hemmung lysosomaler Enzyme durch ein Glycosaminoglycanpolysulfat.
Arzneimittelforsch. 23, 593-597 (1973)

70 GREILING, H. und STUHLSATZ, H.W.: Biochemische Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus antiphlogistisch wirksamer Substanzen. In: Heister, R. und Hoffmann, H.F. (Hrsg.): Die Entzündung, Grundlagen und pharmakologische Beeinflussung, München, Urban und Schwarzenberg 1966, p. 201-209

71 GREILING, H. und STUHLSATZ, H.W.: Biochemische Untersuchungen zur Wirkungsweise eines Polysaccharidsulfates bei degenerativen Gelenkerkrankungen.
Z. Rheumaforsch. 25, 116-121 (1966)

72 GROSS, J., MATHEWS, M.B. and DORFMAN, A.: Sodium chondroitin sulfate-protein complexes of cartilage II. Metabolism
J. biol. Chem. 235, 2889 (1960)

73 GUPTA. B.L., MORETON, R.B. and COOPER, N.C.: Reconsideration of resolution in EM autoradiography using a biological line source.
J. Microsc. 99, 1-25 (1973)

74 HAHN, F.L. and REYGADAS, F.: Demineralization of hard tissue.
Science 114, 462-463 (1951)

75 HANDLEY, C.J. and LOWTHER, D.A.: Inhibition of proteoglycan biosynthesis by hyaluronic acid in chondrocytes in cell culture.
Biochem. biophys. Acta 444, 69 (1976)

76 HEINEGARD, D. and AXELSSON, I.: Distribution of keratan sulfate in cartilage proteoglycans.
J. biol. Chem. 252, 1971-1979 (1977)

77 HELTING, T. and RODEN, L.: Biosynthesis of chondroitin sulfate. I/II
J. biol. Chem. 244, 2790-2799 (1969 a,b)

78 HIGUCHI, M., MASUDA, T., SUSUDA, K., ISHII, S. and ABE, K.: Ultrastructure of the articular cartilage after systemic administration of hydrocortisone in the rabbit: an electron microscopic study.
Clin. Orthop. 152, 296-302 (1980)

79 HINES, W.J.W. and SMITH, M.J.H.: Inhibition of dehydrogenases by salicylate.
Nature 201, 192 (1964)

80 HOEDT-SCHMIDT, S.: Histologische Untersuchungen des Gelenkknorpels der Ratte bei experimentell ausgelöster Gonarthrose. In: Dettmer, N., Lindner, J., Kleesiek, K., Mohr, W., Puhl, W., (Hrsg.): Theoretische und klinische Befunde der Knorpelforschung. III. Symposium für Bindegewebeforschung, Bad Waldsee Basel: Eular 1982 (Congress series) p. 37-45

81 HOFFMANN-OSTENHOFF, O.: Enzymologie.
Wien: Springer 1954

82 HOLLANDER, J.L., BROWN, E.M.,jr., JESSAR, R.A. and BROWN C.Y.: Hydrocortisone and cortisone injected into arthritic joints. Comparative effects of and use of hydrocortisone as a local antiarthritic agent.
J. Am. Med. Assn. 147, 1629-1635 (1951)

83 HRONOWSKI, L. and ANASTASSIADES, T.P.: Rates of glycosaminoglycan synthesis and rates of incorporation of radioactive precursors into newly synthesized glycosaminoglycan by confluent rat muscle fibroblasts.
J. biol. Chem. 255, 9210-9217 (1980)

84 HUSMANN, F.: Die Wirkungsmechanismen der Antirheumatika (Teil 1).
Akt. rheumatol. 4, 5-17 (1979)

85 HUSMANN, F.: Die Wirkungsmechanismen der Antirheumatika (Teil 2).
Akt. rheumatol. 4, 45-57 (1979)

86 HUSMANN, F.: Die Wirkungsmechanismen der Antirheumatika (Teil 3).
Akt. rheumatol. 4, 103-122 (1979)

87 INEROT, S. and HEINEGARD, D.: Articular-cartilage proteoglycans in aging and osteoarthritis.
Biochem. J. 169, 143-156 (1978)

88 ISHIKAWA, K.: A study of deleterious effects of intra-articular corticosteroid on knee joints I.
J. Japanese Orthop. Assn. 52, 359-374 (1978)

88 a) ISHIKAWA, K.: A study of deleterious effects of intra-articular corticosteroid on knee joints II.
J. Japanese Orthop. Assn. 52, 1761-1781 (1978)

89 IWATA, H. und KANEKO , M.: Inkorporation von Glykosaminoglykanpolysulfat (GAGPS) in den Gelenkknorpel und den Meniskus des Kaninchenknies.
In: Dettmer, N., Greiling, H., Sensch, K.H. (Hrsg.): Internationales Arzneimittelsymposium Arteparon R. IX. Europäischer Kongreß für Rheumatologie, Wiesbaden, Sept. 1979.
Basel: Eular 1980 (Congress series) p. 70-82

90 IWATA, H. und KANEKO, M.: Autoradiographischer Nachweis von Glykosaminoglykanpolysulfat im Gelenkknorpel der Ratte.
In: Dettmer, N., Greiling, H., Sensch, K.H. (Hrsg.): Internationales Arzneimittelsymposium Arteparon R. IX. Europäischer Kongreß für Rheumatologie, Wiesbaden, Sept. 1979.
Basel: Eular 1980 (Congress series)

91 JACOBY, R.K. and JAYSON, M.I.V.: Organ culture of adult human articular cartilage. II. The differential rate of glycosaminoglycan synthesis in layers of articular cartilage matrix.
J. Rheumatol. 2, 280-286 (1975)

92 JUBB, R.W. and EGGERT, F.M.: Staining of demineralized cartilage 2. Quantitation of articular cartilage proteoglycan after fixation and rapid demineralization.
Histochemistry 73, 391-396 (1981)

93 KAISER, R. und GOTTSCHALK, G.: Elementare Tests zur Beurteilung von Meßdaten. Soforthilfe für statistische Tests mit wenigen Meßdaten.
Mannheim, Wien, Zürich: B.I.-Wissenschaftsverlag 1972
(B.I.-Hochschultaschenbücher, Bd. 774)

94 KALBHEN, D.A.: Pharmakologische Studien an neoplastischen Mastzellen über Zusammenhänge von Zellvermehrung und Adenosintriphosphat-Gehalt.
Bonn: Peter Haustein Verlag (1969)

95 KALBHEN, D.A.: Experimentell-pharmakologische Prüfung der antiarthrotischen Wirkung des Knorpelknochenmarkextraktes Rumalon. Therapiewoche 31, 4983-5001 (1981)

96 KALBHEN, D.A.: Arthrosis deformans. Experimentell-pharmakologische Studien und ihre klinische Bedeutung. Basel: Eular 1982

97 KALBHEN, D.A.: Chondroprotektive und antiarthrotische Eigenschaften von Glykosaminoglykanpolysulfat (GAGPS) bei der tierexperimentellen Gonarthrose. Z. Rheumatol. 41, 219-229 (1982)

98 KALBHEN, D.A.: Einflüsse antirheumatischer Pharmaka auf den Gelenkknorpel. Akt. Rheumatol. 7, 211-217 (1982)

99 KALBHEN, D.A.: Knorpelschutztherapie bei Arthrosen. Was sie zu leisten vermag, welches sind ihre tierexperimentellen Grundlagen? Therapiewoche 33, 2604-2616 (1983)

100 KALBHEN, D.A. und BLUM, U.: Theoretisches Konzept und experimentelle Bestätigung für ein neues Arthrose-Modell am Versuchstier. Arzneimittelforsch. 27, 527-531 (1977)

101 KALBHEN, D.A., BLUM, U. und SCHILLER, G.: Experimental osteoarthrosis induced by antirheumatic drugs. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. Suppl. 293, R 40 (158) (1976)

102 KALBHEN, D.A. und DOMENJOZ, R.:Angriffsspunkte steroidaler und nichtsteroidaler Symptomatika bei entzündlich-rheumatischen Erkrankungen. Akt. rheumatol. 2, 29-37 (1977)

103 KALBHEN, D.A., KARZEL, K., DINNENDAHL, V. and DOMENJOZ, R.: Effects of natural and semisynthetic polysaccharides on connective tissue metabolism.
Arzneimittelforsch. 20, 1479-1482 (1970)

104 KALBHEN, D.A., KARZEL, K. and DOMENJOZ, R.: The inhibitory effects of some antiphlogistic drugs on the glucosamin incorporation into mucopolysaccharides synthesized by fibroblast cultures.
Med. Pharmacol. exp. 16, 185-189 (1967)

105 KALBHEN, D.A., KARZEL, K. and DOMENJOZ, R.: A high molecular mucopolysaccharide peptide complex stimulating connective tissue metabolism.
Pharmacology 1, 33-42 (1968)

106 KALBHEN, D.A. und SCHILLER, G.: Untersuchungen über die röntgenologische Erfassung degenerativer Gelenkerkrankungen bei einem neuen tierexperimentellen Arthrosemodell.
Z. Rheumatol. 36, 180-193 (1977)

107 KAMEN, M.D.: Isotopic tracers in biology. An introduction to tracer methodology, 3rd.ed.
New York: Academic Press 1957 p. 96

108 KANEKO, M., GREILING, H.: Hemmung des Sulfatstoffwechels und der 3'-Phosphoadenylsulfat-Chondroitin-Sulfotransferase durch ein Glykosaminoglykanpolysulfat.
Arzneimittelforsch. 23, 737 (1973)

109 KARZEL, K. und DOMENJOZ, R.: Stimulation der Mucopolysaccharide produktion in Gewebekulturen durch einen biologischen Faktor.
Med. exp. 9, 385-392 (1963)

110 KARZEL, K. and DOMENJOZ, R.: Actions of corticosteroids on mucopolysaccharide and protein metabolism of fibroblast monolayer cultures.
Pharmacology 2, 302-312 (1969)

111 KARZEL, K., KALBHEN, D.A. and DOMENJOZ, R.: Interactions between corticosteroids and a mucopolysaccharide containing tissue extract on mucopolysaccharide metabolism of fibroblast cultures.
Pharmacology 2, 295-301 (1969)

112 KILGORE, B.S., MCNATT, M.L., MEADOR, S., LEE, J.A., HUGHES, E.R. and ELDERS, M.J.: Alteration of cartilage glycosaminoglycan protein acceptor by somatomadin and cortisol.
Pediatr. Res. 13, 96-99 (1979)

113 KIRKPATRICK, C.J., MOHR, W., WILDFEUER, A. and HAFERKAMP, O.: Influence of nonsteroidal anti-inflammatory agents on lapine articular chondrocyte growth in vitro.
Z. Rheumatol. 42, 58-65 (1983)

114 KLEESIEK, K., OLSCHEWSKI, G., SCHÄFER, N. and GREILING, H.: Einfluß antiphlogistisch und antidegenerativ wirksamer Substanzen auf die Hyaluronat- und Proteoglykanbiosynthese.
Verh. Dtsch. Ges. Rheumatol. 7, 527-532 (1981)

115 KOPRIWA, B.M. and LEBLOND, C.P.: Improvements in the coating technique of radioautography.
J. Histochem. Cytochem. 10, 269-284 (1962)

116 KOPTA, J.A. and BLOSSER, J.A.: Elasticity of articular cartilage. Effects of intraarticular steroid administration and medical meniscectomy.
Clin. Orthop. 64, 21-32 (1969)

117 KRÖSCHEL, P.: Zur Wirkung von Pharmaka auf den Glykosaminoglykan-Stoffwechsel und das Wachstum in vitro kultivierter fetaler Knochenanlagen.
Diss. Math. Nat. Fak. Univ. Bonn 1983

118 KRUZE, D., FEHR, K. and BÖNI, A.: Effect of antirheumatic drugs on cathepsin B 1 from bovine spleen.
Z. Rheumatol. 35, 95-102 (1976)

119 KRUZE, D., FEHR, K., MENNINGER, H. and BÖNI, A.: Effect of antirheumatic drugs on neutral protease from human leucocyte granules.
Z. Rheumatol. 35, 337-346 (1976)

120 LAJTHA, L.G., OLIVER, R., BERRY, R.J. and HELL, E.: Analysis of metabolic rates at the cellular level.
Nature, Lond. 187, 919 (1960)

121 LEE, J.A., HICKS, D.C., HUGHES, E.G., SMITH, D. and ELDERS, M.J.: Cytoplasmatic dexamethasone receptors in embryonic chick cartilage: nature and ontogeny.
J. Steroid Biochem. 9, 23-28 (1978)

122 LEE, K.H. and SPENCER, M.R.: Studies on mechanism of action of salicylates V: Effects of salicylic acid on enzymes involved in mucopolysaccharides synthesis.
J. Pharm. Sci. 58, 464-468 (1969)

123 LEVI, H.: The interpretation of autoradiogramms, especially when using tritium as a tracer.
Scand. J. Haemat. 1, 138-149 (1964)

124 LEVI, H., ROGERS, A.W., WEIS BENTZON, M. and NIELSON, A.: On the quantitative evaluation of autoradiographs.
Mat. Fys. Medd. Dan. Vid. Selsk. 33, 11 (1963)

125 LIEBELT, J.: Orientierende enzymhistochemische Untersuchungen zur Aktivität lysosomaler Enzyme des Gelenkknorpels bei der tieremperimentellen Arthrose.
Diss. Math. Nat. Fak. Univ. Bonn 1984

126 LIPARI, W.A., BLAKE, L.C. and ZIPKIN, I.: Preferential response of the periodontal apparatus and the epiphyseal plate to hydrocortisone and fluoride in the rat.
J. Periodontol 45, 879-890 (1974)

127 LITTLER, T.R.: Anti-rheumatic drugs.
Pharmacol. Ther. 15, 45-68 (1981)

128 LUTFI, A.M. and KOSEL, K.: Effects of intra-articularly administered corticosteroids andsalicylates on the surface structure of articular cartilage.
J. Anat. 127, 393-402 (1978)

129 MAIER, R. und WILHELMI, G.: Spezielle pharmakologische Befunde.
In: Kass, E. (Hrsg.) Voltaren-neue Ergebnisse, Bern, Stuttgart, Wien, Hans Huber, 1982, p. 11-18

130 MAIER, R. und WILHELMI, G.: Neue experimentelle Ergebnisse über Knorpeldestruktion und -protektion.
Der Kassenarzt 22, 36-39 (1982)

131 MALEMUD, C.J. and SOKOLOFF, L.: The effect of prostaglandins on cultured lapine articular condrocytes.
Prostaglandins 13, 845-860 (1977)

132 MANKIN, H.J. and CONGER, K.A.: The acute effects of intra-articular hydrocortisone on articular cartilage in rabbits.
J. Bone Joint Surg. 48-A, 1383-1388 (1966)

133 MARCELON, G., CROS, J. and GUIRAUD, R.: Activity of anti-inflammatory drugs on an experimental model of osteoarthritis. Agents Actions 6, 191-194 (1976)

134 VON DER MARK, K.: Kollagensynthese in Chondrozyten-Kulturen unter dem Einfluß von Arteparon R. In: Dettmer, N., Greiling H., Sensch, K.H. (Hrsg.): Internationales Arzneimittelsymposium Arteparon, Wiesbaden 1979. Basel: Eular 1980, p. 39-50

135 MC CLUSKEY, R.T. and THOMAS, L.: The removal of cartilage matrix in vivo by papain: prevention of recovery with cortisone, hydrocortisone and prednisolone by a direct action on cartilage. Amer. J. Path. 35, 819-833 (1959)

136 MC KENZIE, L.S., HORSBURGH, B.A., GHOSH, P. and TAYLOR, T.K.F.: Effect of anti-inflammatory drugs on sulphated glycosaminoglycan synthesis in aged human articular cartilage. Ann. Rheum. Dis. 35, 487-497 (1976)

137 MEES, C.E.K.: The theory of the photographic process. New York: Macmillan Co. (1942)

138 MENASSE, R., HEDWALL, P.R., KRAETZ, J., PERICIN, C., RIESTERER, L., SALLMANN, A., ZIEL, R. and JAQUES, R.: Pharmacological properties of diclofenac sodium and its metabolites. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 22, 5-16 (1978)

139 MILLER, W.T. and RESTIFO, R.A.: Steroid Arthropathy. Radiology 86, 652-657 (1966)

140 MILNER, J.C.: Osteoarthritis of the hip and indometacin. J. Bone Joint Surg. 54 B, 752 (1972)

141 MITCHELL, D. and HARDINGHAM, T.: The contol of chondroitin sulphate biosynthesis and its influende on the structure of cartilage proteoglycans.
Biochem. J. 202, 387-395 (1982)

142 MÖHRLE, H.: Antirheumatika.
Dtsch. Apothekerzeitung 118, 1499-1505 (1978)

143 MOHR, W.: Persönliche Mitteilung März 1980

144 MOHR, W.: KIRKPATRICK, C.H., WILDFEUER, A. und LEITOLD, M.: Der Einfluß von Piroxicam auf Struktur und Funktionen des Gelenkknorpels.
Z. Rheumatol. 42, 70-77 (1983)

145 MOLIMARD, R., GUILLON, J.C. et MONSAINGEON, A.: Effets de la N acétyl hydroxyproline sur l'évolution des brûlures intermédiaires expérimentales du lapin.
Rev. Europ. Études Clin. et Biol. 17, 625-629 (1972)

146 MOMBURG, M., STUHLSATZ, H.W., VÖGELI, H., VOJTISEK, O., EYLAN , O. und GREILING, H.: Klinisch-chemische Veränderungen in der Synovialflüssigkeit nach intraartikulärer Injektion eines Glykosaminoglykanpolysulfats.
Verh. Dtsch. Ges. Rheumatol. 4, 383-390 (1976)

147 MOSKOWITZ, R.W., DAVIS, W., SAMMARCO, J., MAST, W. and CHASE, S.W.: Experimentally induced corticosteroid arthropathy.
Arthritis Rheum. 13, 237-243 (1970)

148 MÜLLER, W., DICK, W. und PANSE, P.: Konzentration von Glykosaminoglykanpolysulfat im Serum, in der Synovia und im Knorpel nach intramuskulärer Injektion beim Menschen.
Therapiewoche 31, 5902-5914 (1981)

149 MUIR, I.H.M., Biochemistry, In: Freeman , M.A.R. (ed.)
Adult articular cartilage, London: Pitman Medical Publishing Co. Ltd. 1979, 2. edition, p. 145-214

150 MURRAY, R.O.: Steroid and the skeleton.
Radiology 77, 729-743 (1961)

151 OYANAGUI, Y.: Inhibition of superoxide anion production in macrophages by anti-inflammatory drugs.
Biochem. Pharmacol. 25, 1473-1480 (1976)

152 OYANAGUI, Y.: Inhibition of superoxide anion production in non-stimulated guinea pig peritoneal exudate cells by anti-inflammatory drugs.
Biochem. Phamacol. 27, 777-782 (1978)

153 PALMOSKI, M.J. and BRANDT, K.D.: Effects of some nonsteroidal anti-inflammatory drugs on proteoglycan metabolism and organization in canine articular cartilage.
Arthritis Rheum. 23, 1010-1020 (1980)

154 PANAGIDES, J., LANDES, M.J. and SLOBODA, A.E.: Destruction of articular cartilage by arthritic synovium in vitro: Mechanism of breakdown and effect of indomethacin and prednisolone.
Agents Actions 10, 22-30 (1980)

155 PANSE, P., ZEILLER, P. und SENSCH, K.H.: Verteilung und Ausscheidung eines Glykosaminoglykanpolysulfats nach parenteraler Applikation beim Kaninchen.
Arzneimittelforsch. 26, 11, 2024-2029 (1976)

156 PEARSE, A.G.E.: Histochemistry, Theoretical and applied.
Vol. 1, 3rd ed.
Edinburgh, London, New York: Churchill Livingstone 1968, p. 601

157 PETERS, T. and ASHLEY, C.A.: An artefact in radioautography due to binding of free amino acids to tissue by fixatives.
J. Cell. Biol. 33, 53-60 (1967)

158 POISSON, S.D.: Recherches sur la Probabilité des Jugements en Matiéres Criminelles et en Matiéres Civiles Précédées des Règles Générales du Calcul de Probabilité.
Paris 1837

159 PRIEST, N.D.: The effects of hydrocortisone on the mandibular condylar cartilage of the rat.
Proc. roy. Soc. Med. 68, 128-130 (1975)

160 RAINSFORD, K.D.: Aspirin, prostaglandins and mucopolysaccharide-glycoprotein secretion.
Agents Actions 10, 520-521 (1980)

161 RAO, S. and BHUSSRY, B.R.: Response of oral mucous membranes to cortisol.
J. Dent. Res. 43, 870 (1964)

162 RECHENMANN, R. and WITTENDORP, E.: Some basic and practical aspects on the development of nuclear emulsions.
Journal de Microscopie et de Biologie Cellulaire 27, 91-99 (1975)

163 ROBERTSON, G.B. and ROGERS, A.W.: Loss of silver grains from completed autoradiographs.
J. Microsc. 117, 301-303 (1979)

164 RODEN, L.: Chemistry and molecular biology of the intercellular matrix.
Balzazs, E.A. (ed.) Vol. 2
London, New York: Academic Press 1970 p. 816

165 RODEN, L.: Biosynthesis of acidic glycosaminoglycans (mucopolysaccharides).
In: Fishman, W.H. (ed.) Metabolic conjugation and metabolic hydrolysis Vol. 2
New York/London: Academic Press 1970, p. 345-442

166 ROGER, J. and KALBHEN, D.A.: Der Adenosintriphosphat-Gehalt des Knorpels unter dem Einfluß verschiedener Antirheumatica in vitro.
Arzneimittelforsch. 12, 1512-1516 (1968)

167 ROGERS, A.W.: Techniques of autoradiography (3. ed.).
Amsterdam: Elsevier 1979

168 RONNINGEN, H. and LANGELAND, N.: Indomethacin treatment in osteoarthritis of the hip joint.
Acta Orthop. Scand. 50, 169-174 (1979)

169 ROSIVAL, V. und TOMIK, F.: Dekalzifikation mit Äthylen-diamintetraessigsäure.
Zentralbl. Allg. Pathol. 104, 196-198 (1962-63)

170 SACHS, L.: Angewandte Statistik. 5. Auflage
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1978, p. 63

171 SALPETER, M.M., BACHMANN, L. and SALPETER, E.E.: Resolution in electron micorscope radioautography.
J. Cell. Biol. 41, 1 (1969)

172 SALPETER, M.M., BUDD, G.C. and MATTIMOE, S.: Resolution in autoradiography using semithin sections.
J. Histochem. Cytochem. 22, 217-222 (1974)

173 SALPETER, M.M. and SZABO, M.: Sensitivity in electron microscope autoradiography. I. The effect of radiation dose.
J. Histochem. Cytochem. 20, 425-434 (1972)

174 SALTER, R.B., GROSS, A. and HALL, J.H.: Hydrocortisone arthropathy - An experimental investigation.
Canadian Med. Assn. J. 97, 374-377 (1967)

175 SANDERMANN, H.: Struktur und Biosynthese der Glycoproteine und Mucopolysaccharide.
Pharmazeutische Zeitung 125, 184-189 (1980)

176 SANDERSON, J.: New techniques for the preparation of uniform layers of nuclear emulsions for use in micro-autoradiography.
J. Microsc. 104, 179-185 (1975)

177 SANDY, J.D., BROWN, H.L.G. and LOWTHER, D.A.:
Control of proteoglycan Synthesis.
Biochem. J. 188, 119-130 (1980)

178 SANDY, J.D., LOWTHER, D.A. and BROWN, H.L.G.: Antigen-induced arthritis. Studies on the inhibition of proteoglycan synthesis observed in articular cartilage during short-term joint inflammation.
Arthritis Rheum. 23, 433-447 (1980)

179 SAWICKI, W., BLATON, O. and ROWINSKI, J.: Corrections of autoradiographic grain count in respect to precisely calculated background.
Histochemie 26, 27-33 (1971)

180 SCREEBNY, L.M. and NIKIFORUK, G.: Demineralization of hard tissues by organic chelating agents.
Science 113, 560 (1951)

181 SHAW, N.E. and LACEY, E.: The influence of corticosteroids on normal and papain-treated articular cartilage in the rabbit.
J. Bone Joint Surg. 55-B, 197-205 (1973)

182 SILBERBERG, M. and SILBERBERG, R.: Submicroscopic changes in articular cartilage of mice treated with a cartilage-bone-marrow extract.
Exp. Med. Surg. 25, 46-60 (1967)

183 SLOBODA, A.E., TOLMAN, E.L., OSTERBERG, A.C. and PANAGIDES, J.: The pharmacological properties of Fenbufen.
Arzneimittelforsch. 30, 716-721 (1980)

184 SWEETNAM, D.R., MASON, R.M. and MURRAY, R.O.: Steroid arthropathy of the hip.
Britisch Med. J. 1, 1392-1394 (1960)

185 SCHERBACH, E.: Biochemisch-pharmakologische Untersuchungen zur Entwicklung und Therapie einer tierexperimentellen Gonarthrose.
Diss. Math. Nat. Fak. Univ. Bonn 1981

186 SCHILLER, S.: The effect of hormones on synthesis of the region linking chondroitin sulfate to protein.
Biochem. Biophys. Acta 451, 457-464 (1976)

187 SCHRAMM, M., ORLY, J., EIMERE, S. and KORNER, M.: Coupling of hormone receptors to adenylate cyclase of different cells by cell fusion.
Nature 268, 310-313 (1977)

188 STANESCU, R. and LEIBOVICH, S.J.: The negative charge of articular cartilage surfaces.
J. Bone Joint Surg. 64-A, 388-398 (1982)

189 STEINBERG, C.L. R., DUTHIE, R.B. and PIVA, A.E.: Charcot-like arthropathy following intra-articular hydrocortisone.
J. Am. Med. Assn. 181, 851-854 (1962)

190 STEPHENS, R.W., WALTON, E.A., GHOSH, P., TAYLOR, T.K.F., GRAMSE, M. and HAVEMANN,K.: A radio assay for proteolytic cleavage of isolated cartilage proteoglycan. 2. Inhibition of human leucocyte elastase and cathepsin G by anti-inflammatory drugs.
Arzneimittelforsch. 30, 2108-2112 (1980)

191 STEVENS, G.W.W.: Protection against loss of silver grains from autoradiographs.
J. Microsc. 120, 117-118 (1980)

192 STILLSTRÖM, J.: Grain count corrections in autoradiography.
International Journal of Applied Radiation and Isotopes 14, 113-118 (1963)

193 STRANDBERG,B.: Intra-articular steroid therapy. A survey and clinical report.
Acta Rheumat. Scand. 10, 29-54 (1964)

194 TCHERNITCHIN, A., WENK, E.J., SOUTHREN, A.L. and VITTEK, J.: Radioautography of dexamethasone in rabbit gingiva and buccal mucosa.
J. Dent. Res. 59, 2100-2103 (1980)

195 TELSER, A., ROBINSON, H.C. and DORFMAN, A.: The biosynthesis of chondroitin sulfate-protein complex.
Proc. nat. Acad. Sci U.S. 54, 912 (1965)

196 TRNAVSKY, K.: Some effects of antiinflammatory drugs on connective tissue metabolism.
In: Scherer R.A., Whithouse, M.W. (eds.) Antiinflammatory agents. Chemistry and pharmacology. Vol. 2.
New York, Academic Press 1974, p. 303-326
(Medicinal chemistry. A series of monographs. Vol. 13)

197 VANHA-PERTTULA, T. and GRIMLEY, P.M.: Loss of proteins and other macromolecules during preparation of cell cultures for high resolution autoradiography. Quantitation by a micromethod.
J. Histochem. Cytochem. 18, 565-573 (1970)

198 VERBRUGGEN, G. und VEYS, E.M.: Einfluß sulfatierter Glykosaminoglykane auf den Proteoglykanstoffwechsel der synovialen "lining cells".
Acta rhum. belg. 1, 75-92 (1977)

199 WAGENHÄUSER, F.J.: Die medikamentöse Basisbehandlung der Arthrosen.
Vortrag, 5. Fortbildungskurs für Rheumatologie, Basel (1976)

200 WEIGEL, W., IWANGOFF, P. und JAZINSKI, B.: Die Bedeutung der katabolen Vorgänge im Knorpel und ihre Beziehungen zur Pathogenese der degenerativen Gelenkerkrankungen.
Arzneimittelforsch. 19, 780-785 (1969)

201 WIEBKIN, O.W. and MUIR, H.: The inhibition of sulphate incorporation in isolated adult chondrocytes by hyaluronic acid.
FEBS Letts 37, 42 (1973)

202 WIEBKIN, O.W. and MUIR, H.: Influence of the cells on the pericellular environment. The effect of hyaluronic acid on proteoglycan synthesis and secretion by chondrocytes of adult cartilage.
Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 271, 283-291 (1975)

203 YANAGISHIHTA, M., HASCALL, V.C. and RODBARD, D.: Biosynthesis of proteoglycans by rat granulosa cells cultured in vitro: Modulation by gonadotropins, steroid hormones, prostaglandins, and a cyclic nucleotide.
Endocrinology 109, 1641-1649 (1981)

204 YOUNG, P.C.M. and STACK, M.T.: Estrogen and glucocorticoid receptors in adult canine articular cartilage. Arthritis Rheum. 25, 568-573 (1982)

205 ZACHARIAE, L.: Deleterious effects of corticosteroids administered topically in particular intra-articularly. Acta Orthop. Scand. 36, 127-136 (1965)

206 ZAMBRANO, N.Z., MONTES, G.S., SHIGIHARA, K.M., SANCHEZ, E.M. and JUNQUEIRA, L.C.U.: Collagen arrangement in cartilages. Acta Anat. 113, 26-38 (1982)

8. PHOTOGRAPHISCHER ANHANG

Die folgenden Mikrophotographien illustrieren exemplarisch einige Probleme der Histoautoradiographie, die Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin und dessen Verteilung zwischen dem zellulären und extrazellulären Knorpel-Kompartiment, sowie die Verweildauer von ^{3}H-Monojodacetat im Gelenkknorpel nach intraartikulärer Injektion.

Die Silberkörner heben sich als schwarze Punkte deutlich von dem sie umgebenden Knorpelgewebe ab. Sowohl Zellkerne (große dunkel gefärbte mehr oder weniger kreisförmige Gebilde) als auch Zellgrenzen (dunkle Linien) sind gut erkennbar und erlauben so die in Teil 2 dieser Arbeit beschriebene differenzierte Auswertung.
Silberkörner in verschiedenen übereinander liegenden Focus-Ebenen werden als Unschärfen gesehen.

A. Bilder zur Methodik

Bild 1: Kernemulsion mit initial hoher Background-Silberkorndichte wegen Überalterung.
Gewebeschnitt-freier Objektträger, Hämalaun-Färbung, mikroskopische Vergrößerung 1.250-fach.

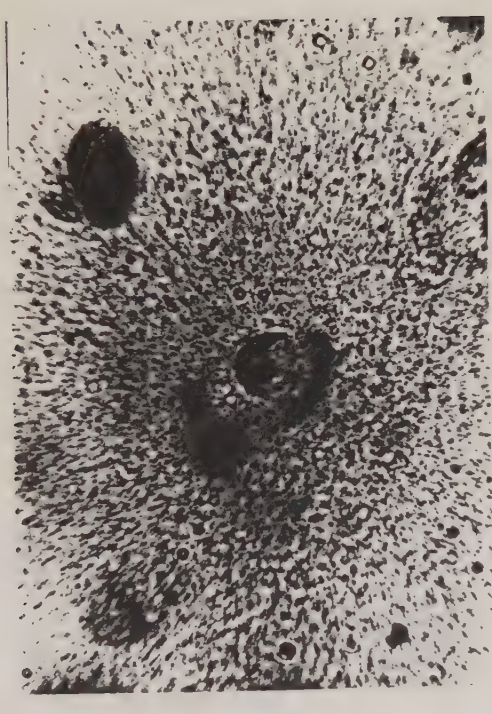


Bild 2: Auswirkung von positiver Chemographie aufgrund unzureichender histologischer Fixierung; dargestellt an einem mit ^{3}H-Glucosamin markiertem Knorpelpräparat, unter Verwendung der in Bild 1 gezeigten überalterten Kernemulsion. Die durch Strahleneinwirkung hervorgerufenen Silberkörner können teilweise wegen ihrer Größe von den vielen feinen Background-Körnern unterschieden werden (größere schwarze Punkte innerhalb des Chondrozyten in der Mitte des Bildes), eine exakte Auswertung eines solchen Autoradiogrammes ist jedoch nicht mehr möglich.
Hämalaun-Färbung, mikroskopische Vergrößerung 1.250-fach.

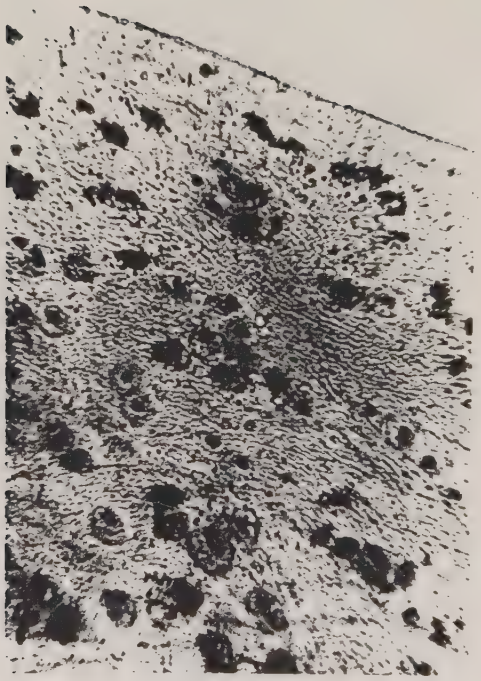


Bild 3: Darstellung eines wegen zu starker Markierung nicht auswertbaren Autoradiogrammes, da weder radioaktive Konzentrationen im Inkubationsmedium noch Expositionszeit optimiert wurden. (^{3}H-Glucosamin 5µCi/ml, Expositionszeit 28d, Hämalaun-Färbung, mikroskopische Vergrößerung 312,5-fach, Knorpelzonen Z I und Z II, Knorpeloberfläche am rechten oberen Bildrand.

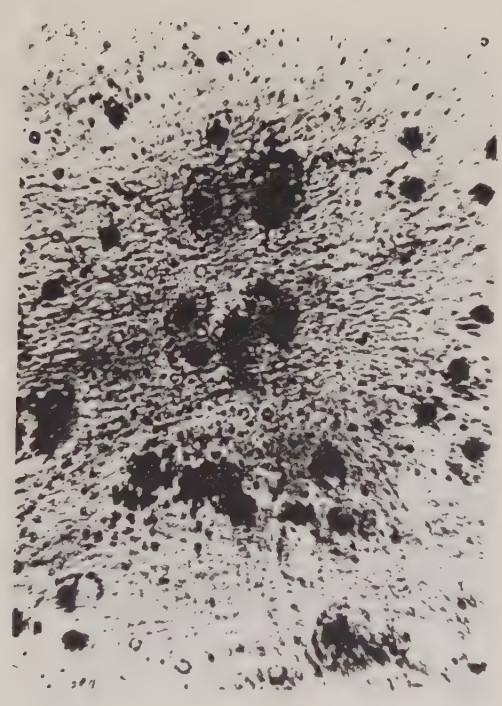


Bild 4: Wie Bild 3, jedoch Ausschnitt aus Knorpelzone Z II; auch bei 500-facher mikroskopischer Vergrößerung ist eine visuelle Silberkornzählung im Autoradiogramm nicht möglich.

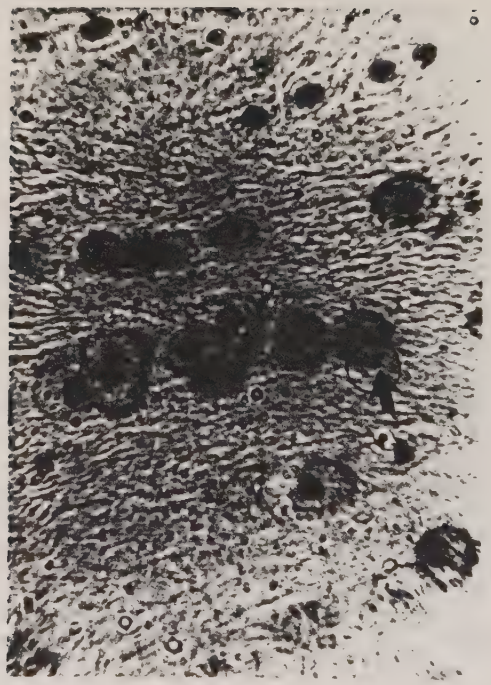


Bild 5: ^{3}H-Glucosamin-markierte Zellen der Knorpelzone Z II (2,5 µCi/ml Inkubationsmedium, Inkubationszeit 3h, Expositionszeit 14d). Das Ausmaß der Markierung des Chondrozyten in der Mitte des rechten Bildrandes (Pfeil) ist bei der 500-fachen Vergrößerung nicht zu bestimmen.
Hämalaun-Färbung

Bild 6: Wie Bild 5; Ausschnittvergrößerung. Markierungsdetails werden bei 1.250-facher mikroskopischer Vergrößerung gut erkennbar (Pfeil).

B. Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in tibio-femuralen Gelenkknorpel

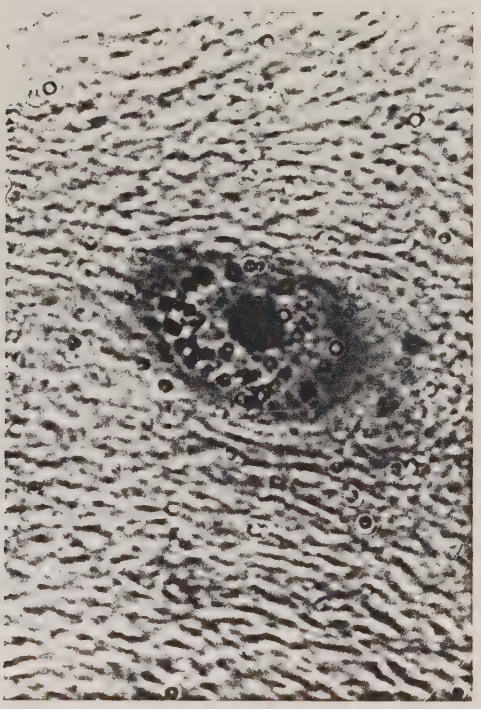


Bild 7: In-vitro-Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in einen Chondrozyten der Zone Z II c des rechten Kniegelenkes eines Versuchstieres. (2,5 µCi/ml Inkubationsmedium) Hämalaun-Färbung, 1.250-fache mikroskopische Vergrößerung.

Bild 8: In-vitro-Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in einen Chondrozyten der Zone Z II c im linken Kniegelenk desselben Versuchstieres wie in Bild 7 nach 2 intraartikulären Injektionen von 1 mg Indometacin im Abstand von 3 Tagen in das linke Kniegelenk. Die starke Erhöhung des Anteils der extrazellulär gebundenen radioaktiven Substanz ist deutlich erkennbar.
Hämalaun-Färbung, 1.250-fache mikroskopische Vergrößerung.

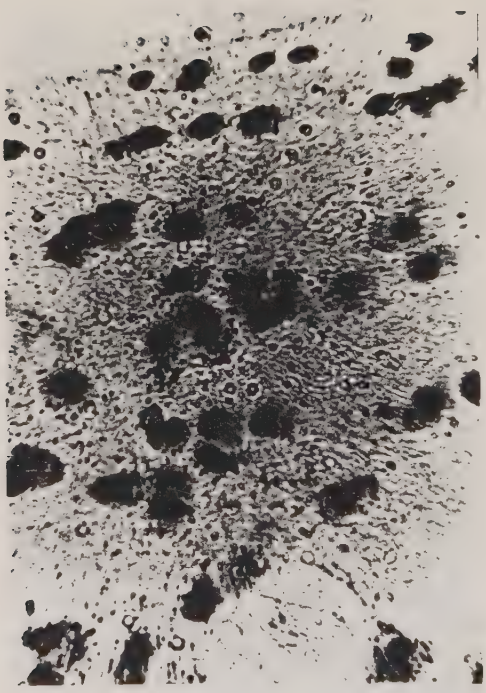


Bild 9: Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel des rechten Knies; gesundes unbehandeltes Kontrollgelenk, Knorpelzonen Z I und Z II; Knorpeloberfläche am linken oberen Bildrand (2,5 µCi/ml Inkubationsmedium) Hämalaun-Färbung, 500-fache mikroskopische Vergrößerung.

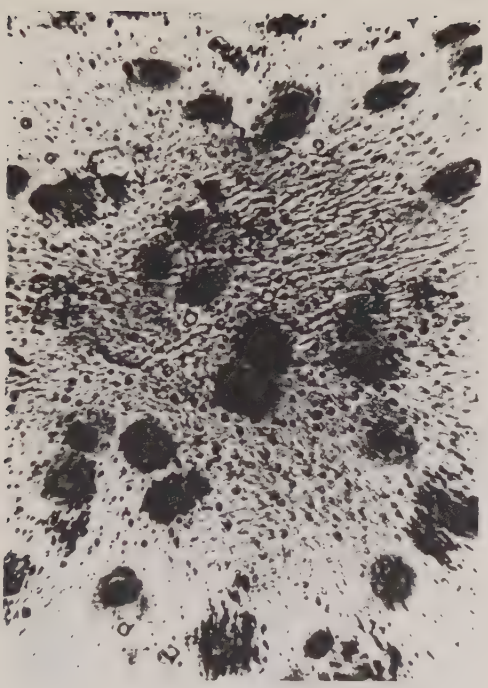


Bild 10: Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach 16 wöchentlichen Injektionen von 2 mg Diclofenac-Na in das linke Kniegelenk. Die Zunahme der Silberkorndichte über den Zellen SDC, sowie der Silberkorndichte über dem Interstitium SDI ist im Vergleich mit dem Kontrollgelenk in Bild 9 deutlich erkennbar. Oberer Bildrand: unterer Bereich der Zone Z I (spindelförmige Zellen, anschließend Knorpelzone Z II) Hämalaun-Färbung, 500-fache mikroskopische Vergrößerung.

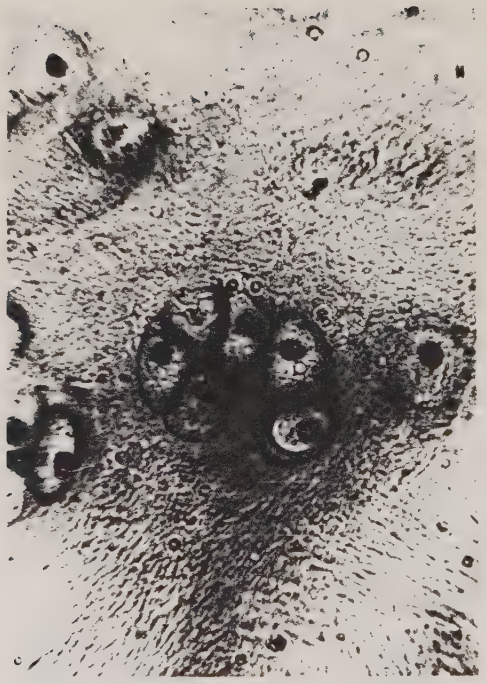


Bild 11: Stark verminderte Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel unter dem Einfluß einer mittels 12 wöchentlichen intraartikulären Injektionen von 1 mg Dexamethason-o-phosphat ausgelösten Arthrose (linkes Kniegelenk, Knorpelzone Z III)
Hämalaun-Färbung, 500-fache mikroskopische Vergrößerung.

Bild 12: Gesteigerte Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel des rechten Knies desselben Tieres wie in Bild 11 nach Therapie der mittels Dexamethason-o-phosphat ausgelösten Arthrose mit 12 wöchentlichen Injektionen von 0,1 mg DAK-16 (Knorpelzone Z III)
Hämalaun-Färbung, 500-fache mikroskopische Vergrößerung.

C. Zur Verweildauer von ^{3}H-Monojodacetat im Gelenkknorpel

Bild 13: Inkorporation von ^{3}H-Monojodacetat 24 Stunden nach Injektion von 50µCi in das Kniegelenk eines gesunden Versuchstieres. Die zu diesem Zeitpunkt noch starke zelluläre Markierung trotz des geringen Molekulargewichtes der Prüfsubstanz wird über eine Bindung an hochmolekulare Komponenten verständlich. (Knorpelzone Z II b)
Hämalaun-Färbung, 500-fache mikroskopische Vergrößerung.

Tabelle 3.2.1.1.1. Einfluß von Indometacin auf den Einbau von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner in vitro.

Knie-Gelenk-Nr.	Konzentration Indometacin mg/ml	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc* $\bar{x} \pm s$	Signifikanz Differenzen-t-Test
1	-	98.99±1.406	6.78±2.231	
2	-	99,25±0.437	7,96±1,182	
3	-	97,89±0.705	7.56±1,927	
4	-	97.25±0.886	5.87±0,988	
5	-	99.01±0.436	6.58±1.025	
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$		98.48±0.852	6.95±1.556	-
6	0.20	97.75±1.486	5.23±1.125	
7	0.20	96.44±1.827	6.74±1.348	
8	0.20	97.15±0.988	7.54±0.979	
9	0.20	98.74±1.008	7.28±1.228	
10	0.20	97.97±1.662	7.56±1.087	
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$		97.61±1.435	6.87±1.160	n.s.
11	1.00	96.14±1.654	3.98±1.154	
12	1.00	98.74±0.267	4.26±1.281	
13	1.00	95.77±1.647	3.43±0.868	
14	1.00	95.72±2.338	4.15±0.102	
15	1.00	94.87±1.956	5.21±0.084	
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$		96.25±1.721	4.21±0.865	$p < 0.001$

(* bezogen auf eine Zelle mit 37,45 µm² Fläche)

Tabelle 3.2.1.1.2. Einfluß von Na-Salicylat auf den Einbau von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner in vitro.

Knie-Gelenk-Nr.	Konzentration Na-Salicylat mg/ml	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc* $\bar{x} \pm s$	Signifikanz Differenzen-t-Test
1	-	97.75±9.860	6.37±1.318	
2	-	96.41±1.369	5.87±0.850	
3	-	96.01±0.945	7.27±1.748	
4	-	97.51±1.492	9.42±1.972	
5	-	97.84±0.704	5.60±1.293	
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$		97.10±1.041	6.87±1.313	-
6	0.5	98.27±1.945	6.21±1.885	
7	0.5	96.61±2.948	3.82±0.415	
8	0.5	96.00±0.691	4.76±1.310	
9	0.5	97.10±1.728	9.31±1.149	
10	0.5	97.40±0.428	7.15±0.239	
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$		97.08±1.627	6.13±1.168	$p < 0.05$
11	2.0	90.38±1.725	3.34±0.959	
12	2.0	91.26±0.989	2.85±0.940	
13	2.0	94.54±0.728	2.20±0.747	
14	2.0	92.54±1.921	2.68±0.378	
15	2.0	92.87±1.625	2.18±0.455	
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$		94.05±1.471	2.65±0.736	$p < 0.001$

(* bezogen auf eine Zelle mit 37.45 µm² Fläche)

Tabelle 3.2.1.2.1. Einfluß von Dexamethason auf den Einbau von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner in vitro.

Knie-Gelenk-Nr.	Konzentration Dexamethason mg/ml	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc* $\bar{x} \pm s$	Signifikanz Differenzen-t-Test
1	-	98.50±0.434	13.64± 8.16	
2	-	-	-	
3	-	97.90±1.418	18.71±11.80	
4	-	79.59±1.401	9.04± 8.05	
5	-	99.01±0.871	21.56±10.05	
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$		93.75±1.109	15.30±9.781	-
6	0.020	81.35±1.117	10.00± 5.06	
7	0.020	97.25±0.428	18.50±11.72	
8	0.020	-	-	
9	0.020	98.31±0.708	12.70± 9.30	
10	0.020	98.75±0.543	17.20± 8.39	
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$		93.91±0.746	14.05±8.679	$p < 0.10$
11	0.200	96.30±1.175	11.81± 6.84	
12	0.200	95.00±0.845	7.76± 5.29	
13	0.200	89.65±1.685	11.58± 6.17	
14	0.200	94.74±1.667	5.83± 3.88	
15	0.200	93.33±1.867	11.29± 7.84	
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$		93.80±1.496	9.30±5.994	$p < 0.01$

(* bezogen auf eine Zelle mit 37.45 µm² Fläche.)

Tabelle 3.2.1.3.1. A Zusammenfassende Darstellung des Einflusses von 0,01 mg/ml GAGPS (Arteparon®) auf die Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner in vitro (n=8). Die Kontrollen wurden ohne GAGPS-Zusatz inkubiert.

Tier-Nr. 1-8

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	89.98±1.404	4.75±1.644	24.31±1.240	3.09±0.045	7.87
Z II a	86.78±1.822	8.27±2.552	20.79±1.399	3.18±0.059	6.54
Z II b	83.37±1.283	7.81±2.733	20.09±0.659	0.99±0.109	20.29
Z II c	73.02±1.278	9.74±3.298	16.56±2.31	1.58±0.020	10.48
Z III	85.27±0.759	3.03±0.854	6.06±0.667	0.73±0.038	8.30
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	83.68±1.352	6.43±2.237	17.56±1.394	1.91±0.062	9.19

Tier-Nr. 1-8 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	77.53±1.178	7.76±2.764	41.44±2.801	1.10±0.015	37.67
Z II a	79.35±1.143	11.31±3.603	30.19±1.509	0.55±0.011	54.89
Z II b	71.69±0.516	10.40±2.922	20.20±0.659	1.01±0.012	20.00
Z II c	66.56±0.586	13.04±4.428	16.07±2.247	0.61±0.032	26.34
Z III	74.92±1.318	6.02±1.806	16.07±1.884	2.03±0.199	7.92
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	74.01±1.004	9.46±3.142	24.79±1.957	1.06±0.056	23.39

Tabelle 3.2.1.3.1. B Zusammenfassende Darstellung des Einflusses von 0,10 mg/ml GAGPS (Arteparon ^{R}) auf die Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner in vitro (n=8). Die Kontrollen wurden ohne GAGPS-Zusatz inkubiert.

Tier-Nr. 1-8

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	94.56±1.437	7.76±2.702	31.11±2.100	2.56±0.036	12.15
Z II a	89.80±1.383	2.14±0.659	10.23±0.538	0.52±0.010	19.67
Z II b	89.83±0.799	3.78±0.988	16.69±0.426	0.24±0.003	69.54
Z II c	77.05±1.356	10.91±3.883	24.28±0.529	0.56±0.033	43.36
Z III	78.45±1.208	6.54±2.138	11.65±1.107	1.84±0.097	6.33
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	85.94±1.258	5.84±2.221	18.79±1.129	1.14±0.049	16.48

Tier-Nr. 1-8 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	77.53±1.178	7.76±2.764	41.44±2.801	1.10±0.015	37.67
Z II a	79.35±1.143	11.31±3.603	30.19±1.509	0.55±0.011	54.89
Z II b	71.69±0.516	10.40±2.922	20.20±0.659	1.01±0.012	20.00
Z II c	66.56±0.586	13.04±4.428	16.07±2.247	0.61±0.032	26.34
Z III	74.92±1.318	6.02±1.806	16.07±1.884	2.03±0.119	7.92
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	74.01±1.004	9.46±3.142	24.79±1.957	1.06±0.056	23.39

Tabelle 3.2.1.3.1. C Zusammenfassende Darstellung des Einflusses von 1,00 mg/ml GAGPS (Arteparon ^{R}) auf die Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner in vitro (n=8). Die Kontrollen wurden ohne GAGPS-Zusatz inkubiert.

Tier-Nr. 1-8

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	82.99±1.270	3.74±1.085	12.97±0.415	2.24±0.026	5.79
Z II a	86.76±1.492	5.23±1.621	27.93±1.885	0.36+0.007	77.58
Z II b	87.79±0.860	8.54±0.061	17.10±1.310	0.83±0.044	20.60
Z II c	84.65±1.210	13.05±3.654	19.61±1.149	1.21±0.071	16.21
Z III	89.12±1.363	1.81±0.489	3.54±0.239	2.48±0.045	1.43
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	86.26±1.257	6.11±1.706	16.23±1.168	1.42±0.044	11.43

Tier-Nr. 1-8 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	77.53±1.178	7.76±2.764	41.44±2.801	1.10±0.015	37.67
Z II a	79.35±1.143	11.31±3.603	30.19±1.509	0.55±0.011	54.89
Z II b	71.69±0.516	10.40±2.922	20.20±0.659	1.01±0.012	20.00
Z II c	66.56±0.586	13.04±4.428	16.07±2.247	0.61±0.032	26.34
Z III	74.92±1.318	6.02±1.806	16.07±1.884	2.03±0.119	7.92
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	74.01±1.004	9.46±3.142	24.79±1.957	1.06±0.056	23.39

Tabelle 3.2.1.3.2. A Zusammenfassende Darstellung des Einflusses von 0,01 mg/ml DAK 16 auf die Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner in vitro (n=8). Die Kontrollen wurden ohne DAK 16-Zusatz inkubiert.

Tier-Nr. 1-8

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	89.03±1.362	6.44±1.868	37.28±2.449	9.48±0.128	3.93
Z II a	85.96±1.324	6.77±2.732	27.93±1.480	4.59±0.087	6.08
Z II b	78.21±1.056	5.66±2.615	10.57±0.352	3.84±0.202	2.75
Z II c	73.36±1.089	11.85±4.027	17.04±2.199	2.03±0.051	8.39
Z III	61.59±1.515	13.11±3.933	26.26±3.671	1.34±0.027	19.60
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	77.63±1.281	7.68±2.698	23.82±2.307	4.26±0.117	5.59

Tier-Nr. 1-8 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	89.58±1.362	6.16±2.194	27.41±1.850	1.07±0.019	25.62
Z II a	84.37±1.215	11.28±3.594	32.27±1.614	0.76±0.015	42.46
Z II b	79.36±1.571	12.56±4.265	21.71±0.708	0.67±0.013	32.40
Z II c	77.72±0.746	22.87±7.767	40.71±5.691	1.33±0.070	30.61
Z III	81.81±1.440	4.76±1.428	10.88±1.089	0.21±0.013	51.81
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	82.57±1.298	10.88±4.189	26.60±2.832	0.81±0.034	32.84

Tabelle 3.2.1.3.2. B Zusammenfassende Darstellung des Einflusses von 0,10 mg/ml DAK 16 auf die Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner in vitro (n=8). Die Kontrollen wurden ohne DAK 16-Zusatz inkubiert.

Tier-Nr. 1-8

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	71.25±1.083	10.57±3.382	60.00±4.020	2.00±0.300	30.00
Z II a	67.32±0.592	9.97±3.081	29.90±0.210	0.70±0.002	43.70
Z II b	79.13±1.393	7.90±2.370	13.56±0.442	3.38±0.066	3.67
Z II c	65.74±0.947	8.64±3.078	16.29±0.547	3.48±0.041	4.68
Z III	69.72±1.060	6.29±1.767	12.60±1.575	0.36±0.021	35.00
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	70.63±1.047	9.15±2.955	26.47±1.958	1.98±0.139	13.37

Tier-Nr. K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	89.58±1.362	6.16±2.194	27.41±1.850	1.07±0.019	25.62
Z II a	84.37±1.215	11.28±3.594	32.27±1.614	0.76±0.015	42.46
Z II b	79.36±1.571	12.56±4.265	21.71±0.708	0.67±0.013	32.40
Z II c	77.72±0.746	22.87±7.767	40.71±5.691	1.33±0.70	30.61
Z III	81.81±1.440	4.76±1.428	10.88±1.089	0.21±0.013	51,81
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	82.57±1.298	10.88±4.189	26.60±2.832	0.81±0.034	32.84

Tabelle 3.2.1.3.2. C Zusammenfassende Darstellung des Einflusses von 1,00 mg/ml DAK 16 auf die Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner in vitro (n=8). Die Kontrollen wurden ohne DAK 16-Zusatz inkubiert.

Tier-Nr. 1-8

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	86.04±1.222	6.21±1.838	35.95±2.067	8.03±0.159	4.18
Z II a	82.24±1.217	7.90±2.481	27.61±0.873	4.25±0.050	6.50
Z II b	74.35±1.234	11.44±3.877	24.90±3.486	2.69±0.142	9.26
Z II c	70.53±2.652	12.16±3.478	18.56±1.893	4.96±0.072	3.74
Z III	86.98±1.731	3.84±1.370	7.69±0.451	0.19±0.010	40.42
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	80.03±1.704	7.63±2.521	22.94±2.048	4.14±0.103	5.54

Tier-Nr. 1-8 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	89.58±1.362	6.16±2.194	27.41±1.850	1.07±0.019	25.62
Z II a	84.38±1.215	11.28±3.594	32.27±1.614	0.76±0.015	42.46
Z II b	79.36±1.571	12.56±4.265	21.71±0.708	0.67±0.013	32.40
Z II c	77.72±0.746	22.87±7.767	40.71±5.691	1.33±0.70	30.61
Z III	81.81±1.440	4.76±1.428	10.88±1.089	0.21±0.013	51.81
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	82.57±1.298	10.88±4.189	26.60±2.832	0.81±0.034	32.84

Tabelle 3.2.1.3.3. A Zusammenfassende Darstellung des Einflusses von 0,001 mg/ml Pentosanpolysulfat (SP 54^{R}) auf die Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner in vitro (n=8).
Die Kontrollen wurden ohne Pentosanpolysulfat inkubiert.

Tier-Nr. 1-8

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	91.81±1.423	4.73±2.081	24.53±1.408	4.05±0.097	6.06
Z II a	83.80±1.248	8.45±2.857	41.65±2.208	5.47±0.107	7.61
Z II b	85.69±0.620	7.91±2.842	30.97±1.009	6.75±0.132	4.59
Z II c	90.71±0.798	6.92±2.350	15.05±1.806	6.28±0.314	2.40
Z III	63.89±1.124	12.75±2.977	27.24±2.315	5.76±0.327	4.73
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	83.18±1.083	7.22±2.546	27.89±1.704	5.66±0.221	4.93

Tier-Nr. 1-8 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	82.50±1.254	13.88±3.672	74.15±4.827	1.94±0.027	38.22
Z II a	87.16±1.255	4.44±2.188	11.02±0.538	3.55±0.069	3.10
Z II b	77.40±0.691	13.28±3.436	27.27±0.886	0.49±0.058	55.65
Z II c	79.22±0.697	12.28±3.412	21.86±2.083	0.36±0.021	60.72
Z III	74.03±1.328	2.39±1.532	4.91±0.319	0.10±0.030	49.10
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	80.06±1.084	10.14±3.135	27.84±2.401	1.29±0.039	21.58

Tabelle 3.2.1.3.3. B Zusammenfassende Darstellung des Einflusses von 0.010 mg/ml Pentosanpolysulfat (SP 54^R) auf die Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner in vitro (n=8).
Die Kontrollen wurden ohne Pentosanpolysulfat inkubiert.

Tier-Nr. 1-8

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	86.37±1.986	6.91±2.418	34.08±0.532	3.65±0.088	6.60
Z II a	84.18±1.583	8.65±2.904	27.77±1.732	1.89±0.033	14.67
Z II b	66.64±1.232	22.98±5.043	37.76±2.256	0.95±0.034	39.98
Z II c	84.43±3.631	8.95±3.012	13.03±0.823	0.81±0.045	16.09
Z III	85.22±3.068	4.79±1.820	9.38±0.470	0.14±0.008	67.00
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	81.37±2.472	9.12±2.942	24.39±1.362	1.49±0.049	16.37

Tier-Nr. 1-8 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	82.50±1.254	13.88±3.672	74.15±4.827	1.94±0.027	38.22
Z II a	87.16±1.255	4.44±2.118	11.02±0.538	3.55±0.069	3.10
Z II b	77.40±0.691	13.28±3.436	27.27±0.886	0.49±0.058	55.65
Z II c	79.22±0.697	12.28±3.492	21.86±2.083	0.36±0.021	60.72
Z III	74.03±1.328	2.39±1.532	4.91±0.319	0.10±0.039	49.10
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	80.06±1.084	10.14±3.135	27.84±2.401	1.29±0.039	21.58

Tabelle 3.2.1.3.3. C Zusammenfassende Darstellung des Einflusses von 0,100 mg/ml Pentosanpolysulfat (SP 54^R) auf die Inkorporation von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner in vitro (n=8).
Die Kontrollen wurden ohne Pentosanpolysulfat inkubiert.

Tier-Nr. 1-8

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	73.80±1.549	10.09±3.331	44.90±2.923	2.86±0.117	15.70
Z II a	65.31±1.541	17.60±3.872	32.53±1.587	1.49±0.028	21.83
Z II b	78.58±2.019	20.19±4.238	43.80±1.542	1.56±0.044	28.08
Z II c	82.89±2.910	22.11±4.824	33.74±3.216	2.29±0.252	14.73
Z III	82.85±1.384	1.57±0.722	3.27±0.262	0.10±0.006	32.70
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	76.69±1.961	14.62±3.738	31.65±2.184	1.66±0.126	19.07

Tier-Nr. 1-8 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	82.50±1.254	13.88±3.672	74.15±4.827	1.94±0.027	38.22
Z II a	87.16±1.255	4.44±2.118	11.02±0.538	3.55±0.069	3.10
Z II b	77.40±0.691	13.28±3.436	27.27±0.886	0.49±0.058	55.65
Z II c	79.22±0.697	12.28±3.492	21.86±2.083	0.36±0.021	60.72
Z III	74.03±1.328	2.39±1.532	4.91±0.319	0.10±0.039	49.10
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	80.06±1.084	10.14±3.135	27.84±2.401	1.29±0.039	21.58

Tabelle 3.2.1.3.4. A Einbau von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel von gesunden Hühnern unter dem Einfluß von 0,010 mg/ml Oxaceprol

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.99±0.442	9.47±3.399	47.21±3.187	14.92±0.216	3.23
Z II a	98.48±1.056	9.64±3.071	32.68±1.584	11.52±0.234	2.84
Z II b	97.52±0.557	11.75±4.024	26.31±3.539	11.02±0.136	2.29
Z II c	95.96±0.667	17.32±4.866	32.64±3.480	6.98±3.95	4.68
Z III	88.10±0.431	18.52±5.556	34.99±4.752	5.87±0.376	5.96
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.81±0.671	11.98±4.040	34.97±3.461	10.07±0.289	3.47

Tier-Nr. 1 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.88±0.400	7.54±2.714	7.04±2.433	12.22±0.193	3.03
Z II a	98.78±0.253	14.23±4.534	38.99±1.899	16.51±0.212	2.36
Z II b	90.28±0.396	14.64±4.392	25.06±2.647	20.90±0.438	1.20
Z II c	90.80±0.628	20.05±6.809	39.24±1.246	6.19±0.454	6.34
Z III	97.59±0.685	11.25±3.206	23.04±3.081	9.97±0.609	2.31
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.21±0.499	13.26±4.077	32.67±2.348	13.14±0.413	2.49

Tabelle 3.2.1.3.4. A Einbau von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel von gesunden Hühnern unter dem Einfluß von 0,010 mg/ml Oxaceprol

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.63±1.008	6.37±2.269	30.36±1.982	3.70±0.059	8.20
Z II a	96.39±0.715	10.56±3.364	30.86±1.493	5.03±0.108	6.13
Z II b	98.32±0.599	9.29±2.610	21.44±0.667	2.46±0.039	8.71
Z II c	99.85±1.119	9.75±2.610	20.52±2.729	1.80±0.121	11.40
Z III	93.34±1.188	6.83±2.083	12.23±1.146	2.85±0.198	4.29
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.51±0.954	8.28±2.842	23.08±1.753	3.17±0.119	7.28

Tier-Nr. 2 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.80±1.438	9.21±2.763	33.80±2.214	2.56±0.058	13.20
Z II a	99.95±1.175	8.70±1.943	15.90±0.462	3.20±0.093	4.97
Z II b	99.89±0.618	5.83±1.775	13.45±1.246	4.72±0.074	2.85
Z II c	99.92±1.579	3.05±0.966	5.25±0.138	4.46±0.318	1.18
Z III	85.17±0.749	6.51±2.211	12.25±1.572	3.12±0.274	3.93
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	99.89±0.173	8.26±2.216	16.13±1.353	3.61±0.197	4.47

Tabelle 3.2.1.3.4. A Einbau von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel von gesunden Hühnern unter dem Einfluß von 0,010 mg/ml Oxaceprol

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.37±0.341	7.99±2.846	40.99±1.304	11.40±0.178	3.59
Z II a	81.02±1.089	21.10±6.722	57.34±2.817	9.72±0.201	5.90
Z II b	98.35±1.198	14.33±4.866	27.62±0.868	7.60±0.097	3.63
Z II c	93.21±0.687	13.39±3.763	19.82±1.882	11.04±0.601	1.79
Z III	94.37±0.825	13.23±3.995	24.56±3.293	6.93±0.435	3.54
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	93.26±0.882	12.28±4.305	34.07±2.226	9.34±0.355	3.65

Tier-Nr. 3 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.29±1.336	8.98±3.199	42.29±2.787	13.38±0.875	3.16
Z II a	98.26±1.271	6.85±1.830	16.62±0.781	5.76±0.386	2.88
Z II b	95.96±0.547	10.34±2.905	20.71±0.643	4.51±0.072	4.59
Z II c	90.96±0.640	13.61±4.622	25.23±3.387	3.62±0.101	6.97
Z III	96.03±1.356	7.61±1.983	12.77±1.178	1.81±0.047	7.05
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.75±0.191	10.15±3.527	23.52±2.081	5.82±0.432	4.04

Tabelle 3.2.1.3.4. A Einbau von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel von gesunden Hühnern unter dem Einfluß von 0,010 mg/ml Oxaceprol

Tier-Nr. 4

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.72±0.346	5.88±2.117	32.40±2.120	8.93±0.141	3.63
Z II a	94.95±1.091	10.16±3.251	35.28±1.117	7.05±0.443	5.00
Z II b	97.36±1.447	8.81±2.476	18.25±2.411	0.34±0.045	53.76
Z II c	99.79±0.745	11.09±3.766	21.72±2.279	2.20±0.032	11.24
Z III	92.53±0.775	6.82±2.114	15.58±2.038	1.56±0.040	9.99
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	96.87±0.955	7.86±2.785	24.65±2.168	4.02±0.210	6.13

Tier-Nr. 4 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.48±1.375	4.67±1.663	23.35±1.508	9.08±0.644	2.57
Z II a	95.19±1.169	10.08±3.668	24.34±1.167	8.33±0.117	2.92
Z II b	95.84±0.546	12.02±3.829	23.92±0.747	8.03±0.187	2.98
Z II c	93.98±0.633	11.28±3.170	21.09±2.808	3.50±0.071	6.03
Z III	98.46±1.570	2.26±0.780	5.82±0.482	0.66±0.038	8.82
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	96.19±0.447	8.51±2.489	19.70±1.569	5.92±0.305	3.33

Tabelle 3.2.1.3.4. A Einbau von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel von gesunden Hühnern unter dem Einfluß von 0,010 mg/ml Oxaceprol

Tier-Nr. 5

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.76±0.400	7.02±2.527	37.42±2.549	6.62±0.010	5.65
Z II a	99.56±1.281	6.44±2.061	21.32±1.016	7.52±0.156	2.83
Z II b	99.91±0.632	4.63±1.301	14.40±1.874	6.90±0.433	2.09
Z II c	99.72±0.793	10.78±3.234	20.1-±0.626	4.99±0.065	4.05
Z III	99.78±1.547	9.84±3.342	21.65±0.673	7.22±0.408	2.97
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	99.75±1.022	7.08±2.554	23.00±1.542	6.65±0.277	3.46

Tier-Nr. 5 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.88±0.400	7.54±2.714	37.04±2.433	12.22±0.193	3.03
Z II a	98.78±0.253	14.23±4.534	38.99±1.899	16.51±0.212	2.36
Z II b	90.28±0.396	14.64±4.392	25.06±2.647	20.90±0.438	1.20
Z II c	90.80±0.628	20.05±6.809	39.24±1.246	6.19±0.454	6.34
Z III	97.59±0.685	11.25±3.206	23.04±3.081	9.97±0.609	2.31
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.21±0.499	13.26±4.077	32.67±2.348	13.14±0.413	2.49

Tabelle 3.2.1.3.4. B Einbau von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel von gesunden Hühnern unter dem Einfluß von 0,100 mg/ml Oxaceprol

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.13±1.763	9.17±2.348	40.42±2.021	2.73±0.038	14.81
Z II a	98.79±1.085	7.38±1.353	19.01±1.247	1.81±0.091	10.50
Z II b	97.88±2.101	7.99±2.081	19.90±0.649	2.54±0.151	7.83
Z II c	96.36±3.124	6.32±2.569	26.57±3.709	1.75±0.092	15.18
Z III	98.84±1.111	6.64±1.421	15.70±1.751	0.77±0.032	20.39
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	98.00±1.985	7.50±µ.855	24.32±2.139	1.92±0.092	12.67

Tier-Nr. 1 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.88±0.400	7.54±2.714	37.04±2.433	12.22±0.193	3.03
Z II a	98.78±0.253	14.23±4.534	38.99±1.899	16.51±0.212	2.36
Z II b	90.28±0.396	14.64±4.392	25.06±2.647	20.90±0.438	1.20
Z II c	90.80±0.628	20.05±6.809	39.24±1.246	6.19±0.454	6.34
Z III	97.59±0.685	11.25±3.206	23.04±3.081	9.97±0.609	2.31
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.21±0.499	13.26±4.077	32.67±2.348	13.14±0.413	2.49

Tabelle 3.2.1.3.4. B Einbau von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel von gesunden Hühnern unter dem Einfluß von 0,100 mg/ml Oxaceprol

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.27±1.494	10.81±3.053	42.24±2.853	5.10±0.270	8.28
Z II a	96.61±1.391	6.67±1.879	21.10±1.425	4.83±0.251	4.37
Z II b	96.00±0.691	7.15±2.278	19.09±0.951	1.92±0.110	9.94
Z II c	97.10±0.854	6.23±2.219	10.70±1.076	5.06±0.272	2.11
Z III	97.40±1.714	9.63±3.272	14.70±0.512	1.83±0.041	8.03
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.08±1.039	7.98±2.824	21.57±1.581	3.75±0.211	5.75

Tier-Nr. 2 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.80±1.438	9.21±2.763	33.80±2.214	2.56±0.058	13.20
Z II a	99.95±1.175	8.70±1.943	15.90±0.462	3.20±0.093	4.97
Z II b	99.89±0.618	5.83±1.775	13.45±1.246	4.72±0.074	2.85
Z II c	99.92±1.579	3.05±0.966	5.25±0.138	4.46±0.318	1.18
Z III	85.17±0.749	6.51±2.211	12.25±1.572	3.12±0.274	3.93
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	99.89±0.173	8.26±2.216	16.13±1.353	3.61±0.197	4.47

Tabelle 3.2.1.3.4. B Einbau von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel von gesunden Hühnern unter dem Einfluß von 0,100 mg/ml Oxaceprol

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.33±0.475	6.21±2.212	34.19±2.311	1.72±0.141	19.88
Z II a	97.77±0.323	2.87±0.806	17.32±0.873	1.61±0.162	10.79
Z II b	95.01±1.285	12.48±3.744	17.94±0.584	5.45±0.189	3.29
Z II c	99.84±0.371	9.61±3.263	19.44±2.726	1.62±0.073	12.00
Z III	98.10±0.766	4.46±1.421	7.70±0.782	0.16±0.212	48.25
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.81±0.585	6.23±2.249	19.32±1.702	2.11±0.132	9.16

Tier-Nr. 3 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.29±1.336	8.98±3.199	42.29±2.787	13.38±0.875	3.16
Z II a	98.26±1.271	6.85±1.830	16.62±0.781	5.76±0.386	2.88
Z II b	95.96±0.547	10.34±2.905	20.71±0.643	4.51±0.072	4.59
Z II c	90.96±0.640	13.61±4.622	25.23±3.387	3.62±0.101	6.97
Z III	96.03±1.356	7.61±1.983	12.77±1.178	1.81±0.047	7.05
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.71±0.191	10.15±3.527	23.52±2.081	5.82±0.432	4.04

Tabelle 3.2.1.3.4. B Einbau von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel von gesunden Hühnern unter dem Einfluß von 0,100 mg/ml Oxaceprol

Tier-Nr. 4

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.20±0.855	11.71±4.171	59.05±3.986	5.95±0.024	9.92
Z II a	92.21±0.628	13.61±5.824	20.19±1.009	3.81±0.074	5.29
Z II b	98.33±0.664	14.39±6.585	20.34±0.663	7.35±0.388	2.77
Z II c	98.53±0.635	7.60±2.280	11.75±1.643	2.48±0.145	4.73
Z III	97.03±0.201	7.37±2.503	9.84±0.985	2.51±0.489	3.92
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	96.66±0.634	11.60±5.758	24.23±1.657	4.42±0.289	5.48

Tier-Nr. 4 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.48±1.375	4.67±1.663	23.35±1.508	9.08±0.644	2.57
Z II a	95.19±1.169	10.08±3.668	24.34±1.167	8.33±0.117	2.92
Z II b	95.84±0.546	12.02±3.829	23.92±0.747	8.03±0.187	2.98
Z II c	93.98±0.633	11.28±3.170	21.09±2.808	3.50±0.071	6.03
Z III	98.46±1.570	2.26±0.780	5.82±0.482	0.66±0.038	8.82
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	96.19±0.447	8.51±2.489	19.70±1.569	5.92±0.305	3.33

Tabelle 3.2.1.3.4. B Einbau von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel von gesunden Hühnern unter dem Einfluß von 0,100 mg/ml Oxaceprol

Tier-Nr. 5

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.87±1.370	8.57±3.053	40.39±2.019	2.23±0.073	18.11
Z II a	95.62±0.665	5.26±1.578	12.30±0.830	0.76±0.284	16.18
Z II b	89.83±0.287	2.05±0.696	3.65±0.183	0.66±0.020	5.53
Z II c	90.52±0.398	0.37±0.104	0.90±0.126	1.41±0.127	0.64
Z III	94.91±1.658	0.53±0.169	1.01±0.141	0.69±0.081	1.46
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	93.75±1.030	3.89±1.856	11.65±0.967	1.15±0.335	10.13

Tier-Nr. 5 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.88±0.400	7.54±2.714	37.04±2.433	12.22±0.193	3.03
Z II a	98.78±0.253	14.23±4.534	38.99±1.899	16.51±0.212	2.36
Z II b	90.28±0.396	14.64±4.392	25.06±2.647	20.90±0.438	1.20
Z II c	90.80±0.628	20.05±6.809	39.24±1.246	6.19±0.454	6.34
Z III	97.59±0.685	11.25±3.206	23.04±3.081	9.97±0.609	2.31
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.21±0.499	13.26±4.077	32.67±2.348	13.14±0.413	2.49

Tabelle 3.2.1.3.4. C Einbau von ^{3}H-Prolin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel von gesunden Hühnern unter dem Einfluß von 0,01 mg/ml Oxaceprol

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	91.77±3.620	23.09±8.081	88.09±2.872	7.12±0.114	12.37
Z II a	98.00±1.523	16.76±4.710	48.83±3.320	4.65±0.091	10.50
Z II b	97.18±1.489	14.27±4.138	22.86±2.766	4.17±0.499	5.48
Z II c	98.53±0.952	11.53±3.916	16.79±1.595	3.89±0.206	4.32
Z III	99.97±0.462	5.84±1.835	10.40±1.393	6.84±0.401	1.52
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.09±1.937	14.28±4.981	37.39±2.506	5.33±0.308	7.01

Tier-Nr. 1 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.24±1.326	19.22±4.846	60.83±4.106	5.59±0.364	10.88
Z II a	96.34±1.099	23.42±5.419	51.18±2.559	2.96±0.144	17.29
Z II b	98.74±0.567	16.60±4.665	31.03±4.338	1.45±0.047	21.40
Z II c	98.59±0.692	7.33±2.489	11.19±0.365	6.90±0.658	1.62
Z III	86.69±1.438	6.77±2.031	10.17±1.020	2.58±0.151	3.94
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.52±1.080	17.14±4.013	32.88±2.946	3.90±0.350	8.43

Tabelle 3.2.1.3.4. C Einbau von ^{3}H-Prolin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel von gesunden Hühnern unter dem Einfluß von 0,01 mg/ml Oxaceprol

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	95.80±3.289	2.17±0.738	12.86±0.870	0.17±0.002	77.47
Z II a	95.96±2.077	18.02±5.709	62.93±2.832	0.69±0.013	90.68
Z II b	98.88±1.568	8.28±2.327	20.28±0.663	2.70±0.034	7.51
Z II c	95.84±1.815	9.03±3.160	17.22±2.408	1.78±0.094	9.67
Z III	97.62±1.009	4.54±1.353	7.28±1.018	0.88±0.051	8.27
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	96.82±2.093	8.57±3.324	24.11±1.792	0.44±0.023	54.79

Tier-Nr. 2 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.34±1.206	14.10±4.935	60.26±4.067	13.62±0.191	4.42
Z II a	91.13±1.026	15.99±5.094	45.99±2.300	9.52±0.186	4.83
Z II b	93.59±0.494	18.26±6.201	22.95±0.748	4.20±0.052	5.46
Z II c	94.91±0.747	8.89±3.019	10.04±1.404	11.05±0.583	0.91
Z III	91.93±1.618	1.32±0.396	1.98±0.196	2.26±0.132	0.88
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	94.18±1.089	11.61±3.369	28.24±2.209	8.13±0.294	3.47

Tabelle 3.2.1.3.4. C Einbau von ^{3}H-Prolin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel von gesunden Hühnern unter dem Einfluß von 0,01 mg/ml Oxaceprol

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	93.40±3.145	9.18±3.181	49.02±3.260	10.07±0.161	4.87
Z II a	94.49±1.959	16.27±5.089	26.06±1.355	7.01±0.090	3.72
Z II b	97.86±1.423	13.60±3.822	16.65±2.244	1.59±0.093	10.47
Z II c	97.85±1.703	7.27±2.172	6.18±0.362	6.71±0.361	0.92
Z III	93.30±1.981	4.44±1.332	9.69±1.060	2.42±0.048	4.00
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.38±2.125	9.48±3.152	21.52±1.937	5.56±0.187	3.87

Tier-Nr. 3 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	88.90±1.212	15.92±4.935	55.27±6.080	2.73±0.041	20.24
Z II a	90.90±0.624	23.13±5.402	39.96±4.795	3.27±0.064	12.22
Z II b	99.89±0.599	8.80±2.473	11.06±0.332	2.30±0.026	4.81
Z II c	93.30±1.056	7.47±2.353	16.31±0.816	1.58±0.087	10.32
Z III	93.74±1.121	9.77±2.843	15.22±0.989	0.35±0.202	43.48
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	93.34±0.958	13.90±3.764	27.56±3.513	2.05±0.054	13.44

Tabelle 3.2.1.3.4. C Einbau von ^{3}H-Prolin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel von gesunden Hühnern unter dem Einfluß von 0,01 mg/ml Oxaceprol

Tier-Nr. 4

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	95.64±0.153	13.21±3.273	48.20±2.411	10.59±0.254	4.55
Z II a	96.13±0.326	18.71±3.325	27.16±0.885	8.21±0.432	3.31
Z II b	93.87±0.652	13.79±3.223	16.54±1.374	4.77±0.279	3.47
Z II c	94.11±1.125	11.59±2.819	7.81±0.390	2.59±0.084	3.01
Z III	94.05±0.798	9.03±2.703	8.44±0.810	1.54±0.128	5.48
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	94.76±0.701	13.98±3.189	21.63±1.363	5.42±0.265	3.99

Tier-Nr. 4 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.25±0.432	15.29±4.953	52.88±2.106	5.26±0.354	10.05
Z II a	97.56±0.632	22.13±4.204	50.23±1.523	2.67±0.155	18.81
Z II b	97.33±0.599	8.79±2.398	37.64±2.224	2.13±0.074	17.67
Z II c	96.42±0.687	7.48±2.364	11.29±0.838	2.29±0.012	4.93
Z III	96.24±0.697	9.87±2.931	19.01±1.489	2.75±0.055	6.91
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.16±0.617	13.56±3.145	34.21±1.710	3.02±0.178	11.33

Tabelle 3.2.1.3.4. C Einbau von ^{3}H-Prolin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel von gesunden Hühnern unter dem Einfluß von 0,01 mg/ml Oxaceprol

Tier-Nr. 5

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	90.80±1.289	16.18±3.898	15.63±1.254	6.18±0.819	2.53
Z II a	85.84±2.015	20.79±3.401	40.84±2.631	11.50±1.127	3.55
Z II b	87.16±1.556	18.67±2.797	21.80±1.359	5.25±0.663	4.15
Z II c	89.44±1.423	17.05±2.997	15.33±1.434	4.45±0.415	3.44
Z III	91.26±1.447	15.77±3.101	15.85±1.221	5.62±0.498	2.82
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	88.90±1.566	17.14±3.353	21.89±1.667	6.60±0.748	3.32

Tier-Nr. 5 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.50±0.158	14.21±3.935	60.12±1.240	4.86±0.034	12.37
Z II a	98.96±0.965	13.98±3.675	51.81±1.158	3.11±0.078	16.66
Z II b	99.12±0.214	11.67±2.981	35.74±1.015	0.87±0.013	41.08
Z II c	98.56±0.202	10.58±3.112	14.88±1.334	0.52±0.013	28.61
Z III	98.86±0.574	10.35±3.216	12.00±0.887	0.14±0.002	85.71
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	99.00±0.524	12.95±3.301	34.91±1.138	1.90±0.036	18.37

Tabelle 3.2.1.3.5. A Aufnahme von ^{3}H-Prolin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner unter dem Einfluß einer GAGPS-Oxaceprol-Kombination (0,010/ 0,010 mg/ml)

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	95.73±1.303	53.12±7.723	67.48±5.731	41.85±2.453	1.61
Z II a	95.24±1.398	51.16±7.460	61.25±5.063	28.52±0.556	2.15
Z II b	93.29±0.600	49.17±6.847	65.80±6.011	20.51±1.222	3.21
Z II c	98.32±1.554	41.79±6.210	63.25±4.328	12.50±0.272	5.06
Z III	85.42±0.664	46.90±6.647	54.07±2.773	4.48±0.089	12.07
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	93.60±1.172	48.51±7.108	42.37±2.920	21.57±1.257	2.89

Tier-Nr. 1 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.24±1.326	19.22±4.846	60.83±4.106	5.59±0.364	10.88
Z II a	96.34±1.099	23.42±5.419	51.18±2.559	2.96±0.144	17.29
Z II b	98.74±0.567	16.60±4.665	31.03±4.338	1.45±0.047	21.40
Z II c	98.59±0.692	7.33±2.489	11.19±0.365	6.90±0.658	1.62
Z III	86.69±1.438	6.77±2.031	10.17±1.020	2.58±0.151	3.94
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.52±1.080	17.14±4.013	32.88±2.946	3.90±0.350	8.43

Tabelle 3.2.1.3.5. A Aufnahme von ^{3}H-Prolin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner unter dem Einfluß einer GAGPS-Oxaceprol-Kombination (0,010/ 0,010 mg/ml)

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	95.53±1.411	45.12±6.342	80.83±8.631	15.05±0.706	5.37
Z II a	84.20±1.276	41.57±6.679	64.73±2.405	10.08±0.633	6.42
Z II b	94.93±1.597	33.79±6.723	69.73±2.834	9.89±0.624	7.05
Z II c	93.76±1.583	24.80±5.584	47.22±2.897	10.52±0.608	4.49
Z III	96.73±1.491	25.89±5.637	41.35±4.790	9.46±0.593	4.37
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	93.03±1.427	32.97±6.388	60.77±4.884	11.02±0.634	5.43

Tier-Nr. 2 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.34±1.206	14.10±4.935	60.26±4.067	13.62±0.191	4.42
Z II a	91.13±1.026	15.99±5.094	45.99±2.300	9.52±0.186	4.83
Z II b	93.59±0.494	18.26±6.201	22.95±0.748	4.20±0.052	5.46
Z II c	94.91±0.747	8.89±3.019	10.04±1.404	11.05±0.583	0.91
Z III	91.93±1.618	1.32±0.396	1.98±0.196	2.26±0.132	0.88
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	94.18±1.089	11.61±3.369	28.24±2.209	8.13±0.294	3.47

Tabelle 3.2.1.3.5. A Aufnahme von ^{3}H-Prolin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner unter dem Einfluß einer GAGPS-Oxaceprol-Kombination (0,010/ 0,010 mg/ml)

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	92.99±1.091	35.95±6.126	71.62±4.978	13.77±0.186	5.20
Z II a	94.66±0.619	32.03±4.537	69.28±4.593	18.55±0.362	3.73
Z II b	99.74±0.399	31.62±4.603	61.03±2.498	14.39±0.843	4.24
Z II c	92.44±1.051	34.95±5.812	60.16±1.157	6.32±0.843	9.52
Z III	87.46±1.521	36.69±6.612	52.84±6.550	9.25±0.489	5.71
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	93.46±1.015	33.39±5.563	62.99±4.390	12.46±0.616	5.05

Tier-Nr. 3 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	88.90±1.212	15.92±4.935	55.27±6.080	2.73±0.041	20.24
Z II a	90.90±0.624	23.13±5.402	39.96±4.795	3.27±0.064	12.22
Z II b	99.89±0.599	8.80±2.473	11.06±0.332	2.30±0.026	4.81
Z II c	93.30±1.056	7.47±2.353	16.31±0.816	1.58±0.087	10.32
Z III	93.74±1.121	9.77±2.843	15.22±0.989	0.35±0.202	43.48
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	93.34±0.958	13.90±3.764	27.56±3.513	2.05±0.054	13.44

Tabelle 3.2.1.3.5. A Aufnahme von ^{3}H-Prolin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner unter dem Einfluß einer GAGPS-Oxaceprol-Kombination (0,010/ 0,010 mg/ml)

Tier-Nr. 4

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	96.63±1.068	45.89±6.582	61.06±2.191	14.62±1.096	4.18
Z II a	94.21±1.158	39.57±6.311	57.15±3.017	14.01±1.726	4.08
Z II b	95.05±1.134	31.85±5.837	50.29±2.593	11.69±0.534	4.30
Z II c	93.98±0.827	29.08±5.089	47.89±2.916	10.02±0.383	4.78
Z III	96.93±0.824	30.39±5.992	48.61±3.098	7.71±0.434	6.30
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.36±1.013	38.22±6.093	53.00±2.783	11.61±0.878	4.56

Tier-Nr. 4 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.25±0.432	15.29±4.953	52.88±2.106	5.26±0.354	10.05
Z II a	97.56±0.632	22.13±4.204	50.23±1.523	2.67±0.155	18.81
Z II b	97.33±0.599	8.79±2.398	37.64±2.224	2.13±0.074	17.67
Z II c	96.42±0.687	7.48±2.364	11.29±0.838	2.29±0.012	4.93
Z III	96.24±0.697	9.87±2.931	19.01±1.489	2.75±0.055	6.91
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.16±0.617	13.56±3.145	34.21±1.710	3.02±0.178	11.33

Tabelle 3.2.1.3.5. A Aufnahme von ^{3}H-Prolin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner unter dem Einfluß einer GAGPS-Oxaceprol-Kombination (0,010/ 0,010 mg/ml)

Tier-Nr. 5

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	91.26±0.652	50.18±7.225	55.39±3.219	15.15±1.310	3.66
Z II a	90.08±0.516	42.66±6.542	54.44±3.310	12.36±1.365	4.40
Z II b	92.63±0.562	40.15±6.301	50.29±3.113	9.35±0.643	5.38
Z II c	91.55±0.611	35.96±5.782	45.90±3.001	6.32±0.774	7.26
Z III	90.73±0.670	26.00±5.220	50.08±3.257	7.27±0.581	6.89
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	91.25±0.605	38.99±6.390	51.22±3.182	10.09±0.993	5.08

Tier-Nr. 5 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.50±0.158	14.21±3.935	60.12±1.240	4.86±0.034	12.37
Z II a	98.96±0.965	13.98±3.675	51.81±1.158	3.11±0.078	16.66
Z II b	99.12±0.214	11.67±2.981	35.74±1.015	0.87±0.013	41.08
Z II c	98.56±0.202	10.58±3.112	14.88±1.334	0.52±0.013	28.61
Z III	98.86±0.574	10.35±3.216	12.00±0.887	0.14±0.002	85.71
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	99.00±0.524	12.95±3.301	34.91±1.138	1.90±0.036	18.37

Tabelle 3.2.1.3.5. B Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner unter dem Einfluß einer GAGPS-Oxaceprol-Kombination (0,010/0,010 mg/ml)

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	95.12±1.302	7.28±2.595	34.04±2.312	0.85±0.049	40.05
Z II a	99.04±0.641	5.95±1.672	20.86±1.043	0.57±0.030	36.60
Z II b	97.84±1.546	5.93±1.779	13.20±0.430	0.59±0.031	22.37
Z II c	89.93±1.142	7.44±2.370	13.76±0.162	1.14±0.022	12.07
Z III	96.81±0.764	5.83±2.040	9.35±0.131	2.54±0.049	3.68
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.75±2.130	6.46±2.112	18.24±1.154	1.14±0.038	16.00

Tier-Nr. 1 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.88±0.400	7.54±2.714	37.04±2.433	12.22±0.193	3.03
Z II a	98.78±0.253	14.23±4.534	38.99±1.899	16.51±0.212	2.36
Z II b	90.28±0.396	14.64±4.392	25.06±2.647	20.90±0.438	1.20
Z II c	90.80±0.628	20.05±6.809	39.24±1.246	6.19±0.454	6.34
Z III	97.59±0.685	11.25±3.206	23.04±3.081	9.97±0.609	2.31
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.21±0.499	13.26±4.077	32.67±2.348	13.14±0.413	2.49

Tabelle 3.2.1.3.5. B Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner unter dem Einfluß einer GAGPS-Oxaceprol-Kombination (0,010/0,010 mg/ml)

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	94.29±1.306	6.65±2.369	39.09±3.910	4.79±0.067	8.16
Z II a	90.42±1.174	8.50±2.708	24.58±1.229	0.89±0.018	27.62
Z II b	92.66±0.727	9.34±2.662	14.44±0.471	4.19±0.550	3.44
Z II c	91.85±0.597	3.22±1.093	4.30±0.601	1.53±0-081	2.81
Z III	98.73±1.562	2.97±0.841	5.60±0.783	0.11±0.006	50.91
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	93.59±0.894	6.43±2.208	17.60±1.897	2.30±0.053	7.65

Tier-Nr. 2 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.80±1.438	9.21±2.763	33.80±2.214	2.56±0.058	13.20
Z II a	99.95±1.175	8.70±1.943	15.90±0.462	3.20±0.093	4.97
Z II b	99.89±0.618	5.83±1.775	13.45±1.246	4.72±0.074	2.85
Z II c	99.92±1.579	3.05±0.966	5.25±0.138	4.46±0.318	1.18
Z III	85.17±0.749	6.51±2.211	12.25±1.572	3.12±0.274	3.93
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	99.89±0.173	8.26±2.216	16.16±1.353	3.61±0.197	4.47

Tabelle 3.2.1.3.5. B Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner unter dem Einfluß einer GAGPS-Oxaceprol-Kombination (0,010/0,010 mg/ml)

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.75±0.008	7.15±2.396	19.24±1.155	0.81±0.011	23.75
Z II a	99.83±0.012	8.03±2.600	18.60±1.978	0.77±0.015	24.16
Z II b	99.12±0.023	6.53±2.101	19.29±1.750	1.18±0.014	16.35
Z II c	99.46±0.021	5.99±2.055	18.21±1.331	1.05±0.055	17.34
Z III	99.79±0.025	5.54±2.003	21.11±1.498	1.29±0.076	16.36
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	99.59±0.019	6.54±2.160	19.92±1.570	1.02±0.043	19.53

Tier-Nr. 3 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.29±1.336	8.98±3.199	42.29±2.787	13.38±0.875	3.16
Z II a	98.26±1.271	6.85±1.830	16.62±0.781	5.76±0.386	2.88
Z II b	95.96±0.547	10.34±2.905	20.71±0.643	4.51±0.072	4.59
Z II c	90.96±0.640	13.61±4.622	25.23±3.387	3.62±0.101	6.97
Z III	96.03±1.356	7.61±1.983	12.77±1.178	1.81±0.047	7.05
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.71±0.191	10.15±3.527	23.52±2.081	5.82±0.432	4.04

Tabelle 3.2.1.3.5. B Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner unter dem Einfluß einer GAGPS-Oxaceprol-Kombination (0,010/0,010 mg/ml)

Tier-Nr. 4

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.75±0.796	9.17±3.042	32.42±2.835	0.83±0.012	39.06
Z II a	98.82±0.559	8.38±2.879	21.20±2.250	0.78±0.015	27.18
Z II b	99.01±0.195	7.23±2.178	19.19±0.951	0.51±0.006	37.63
Z II c	98.65±0.544	7.95±2.519	15.70±1.076	0.28±0.012	56.07
Z III	99.32±0.572	8.81±3.072	18.39±1.530	0.35±0.016	52.54
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	98.71±0.565	8.89±2.812	21.38±1.871	0.55±0.013	38.87

Tier-Nr. 4 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.48±1.375	4.67±1.663	23.35±1.508	9.08±0.644	2.57
Z II a	95.19±1.169	10.08±3.668	24.34±1.167	8.33±0.117	2.92
Z II b	95.84±0.546	12.02±3.829	23.92±0.747	8.03±0.187	2.98
Z II c	93.98±0.633	11.28±3.170	21.09±2.808	3.50±0.071	6.03
Z III	98.46±1.570	2.26±0.780	5.82±0.482	0.66±0.038	8.82
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	96.19±0.447	8.51±2.489	19.70±1.569	5.92±0.305	3.33

Tabelle 3.2.1.3.5. B Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibiofemuralen Gelenkknorpel gesunder Hühner unter dem Einfluß einer GAGPS-Oxaceprol-Kombination /0,010/0,010 mg/ml)

Tier-Nr. 5

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.05±0.325	10.17±3.271	39.50±3.221	0.98±0.014	40.31
Z II a	99.26±0.312	11.02±3.201	39.99±3.102	1.29±0.042	31.00
Z II b	99.00±0.331	8.11±2.682	26.43±2.088	0.71±0.004	37.22
Z II c	99.13±0.185	7.95±2.691	12.75±1.667	0.65±0.004	19.61
Z III	99.06±0.462	8.96±2.959	17.83±2.500	1.07±0.021	16.66
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	99.10±0.335	9.02±3.156	27.30±2.584	0.94±0.022	29.04

Tier-Nr. 5 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.88±0.400	7.54±2.714	37.04±2.433	12.22±0.193	3.03
Z II a	98.78±0.253	14.23±4.534	38.99±1.899	16.51±0.212	2.36
Z II b	90.28±0.396	14.64±4.392	25.06±2.647	20.90±0.438	1.20
Z II c	90.80±0.628	20.05±6.809	39.24±1.246	6.19±0.454	6.34
Z III	97.59±0.685	11.25±3.206	23.04±3.081	9.97±0.609	2.31
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.21±0.499	13.26±4.077	32.67±2.348	13.14±0.413	2.49

Tabelle 3.3.1.1.1. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 20 mg Natriumsalicylat an aufeinanderfolgenden Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner.

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	89.47±1.360	6.76±0.906	24.99±1.687	6.27±0.878	3.98
Z II a	92.86±1.254	10.54±1.845	12.39±1.239	2.94±0.172	4.21
Z II b	77.78±1.464	11.93±1.926	16.02±0.522	3.34±0.065	4.80
Z II c	80.00±1.408	10.75±2.576	9.99±1.396	2.94±0.155	3.40
Z III	92.77±0.826	7.85±1.581	9.85±0.493	3.69±0.072	2.68
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	86.58±1.283	9.51±1.715	14.65±1.170	3.83±0.408	3.82

Tier-Nr. 1 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	96.55±1.661	7.93±1.309	20.67±0.674	6.33±0.123	3.26
Z II a	92.86±1.411	12.87±2.642	14.93±1.007	2.24±0.131	6.66
Z II b	98.36±1.731	9.53±3.393	9.42±1.318	4.81±0.254	1.96
Z II c	90.91±0.800	7.80±2.711	8.01±0.799	5.05±0.071	1.59
Z III	98.67±0.710	8.54±2.957	11.40±0.570	5.55±0.065	2.05
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.47±1.333	8.85±2.487	12.89±0.913	4.80±0.146	2.68

Tabelle 3.3.1.1.1. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 20 mg Natriumsalicylat an aufeinanderfolgenden Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	86.96±1.522	13.10±4.618	39.52±1.284	4.30±0.051	9.19
Z II a	98.25±1.690	21.00±6.846	27.53±0.537	5.69±0.067	4.84
Z II b	97.95±0.700	12.83±1.874	13.27±0.663	2.78±0.163	4.78
Z II c	98.73±1.238	8.33±2.341	8.14±0.430	3.12±0.061	2.61
Z III	91.67±0.807	5.27±1.287	4.99±0.163	3.98±0.047	1.25
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	94.71±1.253	12.40±4.136	18.69±0.719	3.97±0.089	4.71

Tier-Nr. 2 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	95.00±1.444	9.26±2.927	20.75±2.071	6.51±0.091	3.19
Z II a	98.67±0.868	16.25±4.582	32.98±1.649	4.14±0.081	7.97
Z II b	97.89±0.705	7.50±2.765	10.01±0.529	4.43±0.620	2.26
Z II c	98.01±1.725	10.33±2.321	15.51±2.169	5.13±0.300	3.02
Z III	99.10±0.436	5.50±1.603	8.17±0.752	3.95±0.047	2.07
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.73±1.140	9.59±2.938	17.48±1.585	4.83±0.313	3.62

Tabelle 3.3.1.1.1. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 20 mg Natriumsalicylat an aufeinanderfolgenden Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	90.89±0.410	13.16±2.210	40.61±1.215	6.19±0.242	6.56
Z II a	98.15±0.863	11.37±3.011	30.36±1.518	5.58±0.078	5.44
Z II b	92.31±1.625	13.83±2.191	24.62±3.442	6.11±0.358	4.03
Z II c	97.66±1.484	10.37±2.577	17.04±1.150	3.28±0.064	5.19
Z III	77.78±13.89	5.27±1.887	6.19±0.202	2.86±0.036	2.16
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	91.36±6.304	11.25±2.326	23.76±1.843	4.80±0.199	4.95

Tier-Nr. 3 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	76.92±1.354	4.65±1.503	20.69±1.503	3.55±0.042	5.83
Z II a	98.86±0.870	20.86±6.362	35.43±1.772	7.21±0.141	4.91
Z II b	98.65±1.499	13.80±3.649	24.57±3.434	4.97±0.262	4.94
Z II c	97.88±1.723	6.75±1.978	14.42±1.442	4.81±0.282	3.00
Z III	81.25±8.751	6.45±1.459	7.94±0.377	3.66±0.051	2.17
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	90.71±4.108	8.96±2.996	20.61±1.874	4.84±0.186	4.26

Tabelle 3.3.1.1.2. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 1 mg Diclofenac im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	83.11±2.056	3.00±1.351	9.06±0.508	1.07±0.030	8.47
Z II a	87.45±1.539	3.91±1.759	9.18±0.446	0.75±0.044	12.24
Z II b	91.72±0.660	3.00±1.222	7.31±0.238	0.80±0.048	9.14
Z II c	92.22±0.812	6.00±2.136	10.01±1.252	1.33±0.067	7.53
Z III	89.91±1.421	3.50±1.189	5.90±0.099	0.63±0.037	9.36
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	88.88±1.047	3.72±1.549	8.29±0.647	0.92±0.047	9.01

Tier-Nr. 1 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	85.58±1.327	1.76±0.982	6.94±0.469	2.03±0.028	3.42
Z II a	80.12±1.154	2.37±1.528	7.63±0.382	0.36±0.007	21.19
Z II b	90.37±1.554	0.61±0.592	1.17±0.061	0.53±0.028	2.21
Z II c	74.06±1.303	3.16±1.517	4.21±0.589	0.18±0.010	23.39
Z III	76.11±1.598	2.31±1.201	2.61±0.127	0.20±0.004	13.05
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	81.25±1.397	2.03±1.217	4.51±0.383	0.66±0.019	6.83

Tabelle 3.3.1.1.2. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 1 mg Diclofenac im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	66.03±1.657	3.78±1.546	18.00±1.059	0.39±0.005	46.15
Z II a	86.37±1.589	0.78±0.783	2.51±0.125	0.04±0.001	62.75
Z II b	90.00±2.635	10.16±3.561	22.61±0.737	0.76±0.014	29.75
Z II c	87.65±1.543	0.13±0.042	2.67±0.037	0.14±0.008	19.07
Z III	71.06±1.833	10.07±3.498	17.93±1.437	1.01±0.059	17.75
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	80.22±1.895	4.65±2.179	12.74±0.734	0.47±0.027	27.22

Tier-Nr. 2 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	60.69±0.922	3.43±1.982	16.72±0.836	1.59±0.022	10.51
Z II a	80.42±1.512	2.35±1.582	5.82±0.379	0.41±0.023	14.19
Z II b	75.76±1.424	2.67±0.961	4.67±0.228	0.38±0.019	12.29
Z II c	59.68±1.050	2.41±1.206	3.33±0.465	0.46±0.009	7.24
Z III	56.60±0.498	5.09±1.679	10.19±0.509	0.10±0.003	101.90
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	66.63±1.141	3.06±1.549	8.15±0.524	0.59±0.017	13.81

Tabelle 3.3.1.1.2. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 1 mg Diclofenac im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	86.89±1.321	2.91±1.465	12.04±0.812	0.67±0.028	17.97
Z II a	84.12±1.211	3.85±1.655	10.27±0.514	0.59±0.012	17.41
Z II b	89.99±1.548	3.62±1.665	8.38±0.273	0.68±0.015	12.32
Z II c	90.85±1.599	8.51±3.029	12.12±1.691	1.12±0.059	7.17
Z III	92.38±2.309	6.47±2.818	15.13±1.437	1.43±0.084	10.58
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	88.85±1.643	4.29±1.940	11.59±0.002	0.90±0.048	12.87

Tier-Nr. 3 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	93.55±1.824	0.28±0.518	0.93±0.129	1.76±0.052	0.53
Z II a	84.80±2.035	1.57±1.131	2.75±0.137	0.71±0.020	3.87
Z II b	91.66±1.641	0.31±0.559	0.53±0.073	0.72±0.038	0.74
Z II c	83.88±2.432	0.31±0.528	0.57±0.068	0.94±0.055	0.61
Z III	79.78±1.157	1.00±0.339	2.04±0.204	0.90±0.029	2.27
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	86.73±1.866	0.63±0.699	1.36±0.132	1.01±0.041	1.35

Tabelle 3.3.1.1.3. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 1 mg Indometacin im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	76.10±1.933	12.07±4.079	52.73±3.559	8.81±0.136	5.98
Z II a	64.63±1.137	16.55±4.273	57.46±2.804	11.51±0.224	4.99
Z II b	77.30±0.557	18.60±5.227	34.77±1.113	14.07±0.166	2.47
Z II c	57.98±1.510	17.65±6.287	37.73±1.839	7.35±0.388	5.13
Z III	83.48±1.394	6.86±2.264	15.69±2.021	5.77±0.302	2.72
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	71.90±1.383	14.10±4.454	39.67±2.418	9.50±0.260	4.18

Tier-Nr. 1 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	82.73±1.191	4.43±1.962	27.01±1.532	2.13±0.051	12.68
Z II a	75.56±1.345	6.12±2.448	18.38±0.956	1.85±0.063	9.93
Z II b	80.40±1.005	11.22±3.927	23.98±1.199	0.85±0.049	28.21
Z II c	81.96±1.549	9.19±2.792	17.53±1.404	0.42±0.022	41.74
Z III	75.11±1.908	32.32±5.328	75.51±2.462	2.79±0.138	27.06
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	79.15±1.434	10.67±3.177	32.48±1.596	1.61±0.076	20.17

Tabelle 3.3.1.1.3. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 1 mg Indometacin im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	84.71±2.128	11.15±3.072	52.12±3.393	7.81±0.328	6.67
Z II a	68.41±2.081	13.47±4.574	29.42±1.621	10.79±0.308	2.73
Z II b	70.35±0.901	22.12±7.512	36.10±0.949	8.06±0.229	4.48
Z II c	81.32±3.513	7.53±2.399	13.86±0.936	5.52±0.323	2.51
Z III	80.80±2.238	5.80±2.066	11.62±1.108	3.21±0.182	3.62
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	77.12±2.325	12.00±4.159	28.62±1.852	7.08±0.280	4.04

Tier-Nr. 2 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	85.49±2.179	6.00±2.314	38.45±2.595	5.10±0.105	7.54
Z II a	74.96±0.670	6.78±2.702	31.05±2.021	3.75±0.257	8.28
Z II b	73.51±1.941	10.52±3.282	25.54±1.591	4.67±0.065	5.47
Z II c	82.46±1.253	12.57±3.545	19.83±1.047	5.50±0.161	3.93
Z III	76.42±1.100	9.40±2.928	17.38±0.987	3.23±0.104	5.38
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	78.57±1.533	8.51±2.872	26.45±1.756	4.36±0.154	6.07

Tabelle 3.3.1.1.3. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 1 mg Indometacin im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	86.67±1.317	7.28±2.566	42.77±2.785	8.86±0.173	4.83
Z II a	85.42±2.007	8.96±3.043	29.45±1.428	14.29±0.259	2.06
Z II b	78.80±1.332	17.04±4.260	34.13±1.259	10.95±0.352	3.17
Z II c	76.06±1.338	18.44±4.961	36.10±3.393	8.87±0.482	4.07
Z III	75.54±1.949	14.85±3.603	21.15±1.218	8.87±0.519	2.38
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	80.50±1.620	12.02±3.566	32.72±2.208	10.37±0.380	3.15

Tier-Nr. 3 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	80.18±1.122	9.08±3.178	46.09±3.111	8.67±0.121	5.32
Z II a	73.60±1.060	14.66±4.671	36.13±1.806	3.59±0.070	10.06
Z II b	68.46±0.493	17.83±5.016	30.64±0.999	3.21±0.038	9.54
Z II c	75.74±0.667	13.13±4.459	19.72±2.757	0.69±0.037	28.58
Z III	83.87±1.476	23.63±4.671	42.07±4.107	2.80±0.164	15.02
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	76.37±1.024	15.21±4.287	34.93±2.771	3.79±0.099	9.22

Tabelle 3.3.1.2.1. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,5 mg Triamcinolonhexaacetonid im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	89.90±1.887	4.76±2.108	26.48±1.787	6.19±0.087	4.28
Z II a	70.77±1.217	11.25±3.554	33.38±1.669	6.88±0.134	4.85
Z II b	80.19±0.706	8.21±2.565	23.91±0.779	8.15±0.161	2.93
Z II c	78.81±1.245	10.23±3.109	23.11±1.155	4.74±0.216	4.88
Z III	84.99±1.062	6.34±2.418	11.29±1.524	6.31±0.432	1.79
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	80.93±1.282	7.42±2.645	23.63±1.431	6.45±0.239	3.66

Tier-Nr. 1 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	75.25±1.174	10.03±3.316	6.74±0.631	2.15±0.113	3.13
Z II a	67.54±2.601	7.38±2.714	14.78±0.739	3.62±0.071	4.08
Z II b	82.64±1.595	13.57±4.020	30.65±0.999	1.23±0.022	24.92
Z II c	71.36±2.256	2.78±1.359	42.30±1.275	0.93±0.014	45.48
Z III	78.49±1.962	0.22±0.478	0.43±0.026	1.46±0.028	0.29
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	75.06±1.981	8.55±3.122	18.98±0.845	1.88±0.062	10.10

Tabelle 3.3.1.2.1. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,5 mg Triamcinolonhexaacetonid im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	88.20±1.102	5.47±2.358	18.57±1.254	18.71±0.310	0.99
Z II a	87.09±1.254	7.81±2.694	19.35±0.968	14.21±0.277	1.36
Z II b	87.96±1.513	8.89±3.010	19.55±0.637	10.42±0.189	1.88
Z II c	89.95±0.792	7.30±2.658	17.32±2.421	6.85±0.361	2.53
Z III	81.36±1.359	9.69±3.102	24.63±2.269	5.85±0.343	4.21
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	86.91±1.229	7.70±2.752	19.88±1.669	11.21±0.303	1.77

Tier-Nr. 2 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	93.10±1.415	3.45±1.806	18.41±1.242	2.97±0.042	6.20
Z II a	89.45±0.787	4.15±2.137	11.82±0.591	4.67±0.091	2.53
Z II b	89.37±1.287	5.97±2.432	13.89±0.453	3.37±0.040	4.12
Z II c	79.69±0.054	6.53±2.328	10.73±1.500	0.18±0.009	59.61
Z III	84.90±1.492	1.51±1.217	3.57±0.341	1.00±0.058	3.57
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	87.30±1.141	4.25±2.033	11.68±0.950	2.44±0.055	4.79

Tabelle 3.3.1.2.1. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,5 mg Triamcinolonhexaacetonid im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	92.63±1.593	4.18±1.989	21.61±1.407	8.96±0.136	2.41
Z II a	85.16±3.526	8.22±2.953	19.21±0.937	5.24±0.075	3.67
Z II b	82.22±1.603	8.71±3.068	17.05±0.554	3.01±0.022	5.66
Z II c	77.19±0.965	6.83±2.551	10.64±1.014	0.91±0.101	11.69
Z III	85.78±1.509	6.15±2.403	13.69±0.903	2.38±0.040	5.75
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	84.60±2.037	6.19±2.483	16.44±1.001	4.10±0.085	4.01

Tier-Nr. 3 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	93.56±1.441	2.86±1.642	16.32±1.061	2.97±0.164	5.49
Z II a	81.65±2.000	6.46±2.540	24.14±1.178	5.51±0.276	4.38
Z II b	76.37±2.062	5.77±2.352	13.70±0.445	1.11±0.029	12.34
Z II c	85.52±2.275	8.57±2.998	14.80±0.869	0.58±0.035	25.52
Z III	88.51±0.752	10.91±3.313	25.24±2.022	1.56±0.064	16.18
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	85.12±1.793	5.95±2.425	18.84±1.229	2.35±0.148	8.02

Tabelle 3.3.1.3.1. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,100 mg Arteparon im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	91.67±1.394	7.91±2.817	32.24±2.176	22.96±0.321	1.40
Z II a	89.54±1.289	10.91±3.476	20.17±1.008	11.42±0.223	1.77
Z II b	94.37±0.679	15.13±4.251	19.62±0.640	11.11±0.131	1.77
Z II c	85.49±0.752	12.24±4.157	20.24±2.830	8.91±0.470	2.27
Z III	82.66±1.455	11.93±3.579	16.77±1.761	6.42±0.376	2.61
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	88.75±1.162	11.00±3.551	21.81±1.858	12.16±0.326	1.79

Tier-Nr. 1 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	90.33±2.267	3.42±1.147	16.07±1.046	7.10±0.442	2.26
Z II a	85.93±4.193	4.43±1.559	11.83±0.798	3.54±0.115	3.34
Z II b	88.95±1.530	4.68±1.685	9.37±0.306	2.23±0.119	4.20
Z II c	76.79±1.351	6.86±2.744	12.22±0.979	2.73±0.159	4.48
Z III	88.30±6.343	1.46±0.569	2.43±2.329	0.23±0.018	10.56
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	86.06±3.664	4.01±1.554	10.38±1.281	3.17±0.223	3.27

Tabelle 3.3.1.3.1. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,100 mg Arteparon im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	93.98±1.429	4.38±2.328	24.71±1.829	8.35±0.130	2.96
Z II a	91.01±3.242	3.15±1.166	14.03±0.116	11.33±0.180	1.24
Z II b	92.75±1.744	1.96±0.666	6.64±0.216	8.00±0.094	0.83
Z II c	89.41±1.493	3.72±1.263	12.21±1.707	6.25±0.330	1.95
Z III	86.42±1.521	5.03±1.509	13.45±1.434	8.27±0.485	1.63
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	90.71±2.007	3.69±1.682	14.21±1.294	8.44±0.284	1.68

Tier-Nr. 2 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	88.59±5.767	3.43±1.544	19.33±1.305	2.81±0.115	6.88
Z II a	85.34±2.773	3.18±1.558	7.72±0.491	2.11±0.041	3.68
Z II b	79.72±1.403	3.71±1.845	6.94±0.226	2.02±0.117	3.44
Z II c	92.92±2.398	3.40±1.495	6.81±0.952	0.73±0.043	9.33
Z III	90.32±1.508	12.73±4.201	24.92±2.391	2.10±0.103	11.87
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	87.38±3.188	5.06±2.267	13.14±1.313	1.95±0.091	6.74

Tabelle 3.3.1.3.1. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,100 mg Arteparon im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	81.03±4.262	6.64±2.168	38.99±2.561	13.29±0.545	2.93
Z II a	73.37±3.037	8.42±2.947	26.97±1.408	14.54±0.859	1.85
Z II b	84.15±2.440	6.33±2.120	16.91±1.053	13.92±0.391	1.21
Z II c	77.02±1.448	10.90±3.815	24.41±2.929	14.46±0.993	1.69
Z III	79.26±5.319	9.00±2.790	20.83±1.895	15.61±1.069	1.33
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	78.97±3.570	8.01±2.739	25.62±2.089	14.36±0.814	1.78

Tier-Nr. 3 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	83.15±1.264	7.14±2.356	41.92±2.830	8.96±0.125	4.68
Z II a	60.21±0.867	9.61±2.883	27.65±1.383	10.21±0.199	2.71
Z II b	84.67±0.610	7.30±2.565	12.99±0.436	5.74±0.067	2.26
Z II c	74.74±0.658	11.08±3.763	19.72±2.757	5.94±0.313	3.32
Z III	67.73±1.192	10.43±2.983	19.49±1.849	4.15±0.243	4.70
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	74.10±0.966	8.50±2.792	24.35±2.056	7.00±0.208	3.48

Tabelle 3.3.1.3.2. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,100 mg DAK 16 im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.22±1.872	16.31±4.326	70.71±4.773	35.83±0.502	1.97
Z II a	98.92±0.453	22.95±4.186	77.62±4.036	47.10±0.568	1.65
Z II b	98.13±1.021	18.17±3.718	41.57±2.590	47.69±0.863	0.87
Z II c	97.95±1.633	32.67±9.183	49.59±2.816	42.38±2.212	1.17
Z III	98.22±1.429	27.31±8.146	43.10±2.870	51.35±3.009	0.84
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	98.09±1.375	22.66±6.144	56.52±3.520	44.87±1.747	1.26

Tier-Nr. 1 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.63±1.029	12.37±4.466	44.06±2.472	13.35±0.547	3.30
Z II a	97.92±1.112	11.70±3.615	31.24±1.524	12.76±0.754	2.45
Z II b	98.11±0.432	9.15±2.663	22.70±0.800	15.22±0.393	1.49
Z II c	96.33±0.887	14.62±4.825	34.12±3.252	12.60±0.665	2.71
Z III	97.90±1.492	15.57±4.710	36.37±2.946	15.38±0.820	2.36
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.78±1.048	12.28±4.068	33.70±2.380	13.86±0.654	2.43

Tabelle 3.3.1.3.2. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,100 mg DAK 16 im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.53±1.498	15.58±5.549	60.08±3.461	16.45±0.674	3.65
Z II a	97.93±1.410	12.52±3.989	50.17±2.308	15.51±0.409	3.23
Z II b	98.14±0.699	10.14±2.849	35.89±1.170	12.71±0.277	2.82
Z II c	97.99±0.862	14.50±4.924	33.67±3.704	19.60±1.035	1.72
Z III	96.26±1.694	13.81±4.143	30.25±2.968	33.99±1.135	0.89
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.77±1.104	13.35±4.449	42.01±2.871	19.65±0.782	2.14

Tier-Nr. 2 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.53±1.211	10.67±3.083	48.81±3.309	14.10±0.344	3.46
Z II a	98.61±1.012	8.74±2.745	31.67±1.517	10.63±0.198	2.98
Z II b	98.00±1.125	11.58±3.592	33.77±1.097	13.51±0.267	2.50
Z II c	97.95±1.863	19.40±4.413	30.47±4.259	13.51±1.288	2.25
Z III	96.99±1.092	12.86±3.313	28.28±2.265	10.84±0.635	2.61
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.82±1.298	11.84±3.317	34.60±2.747	12.52±0.677	2.76

Tabelle 3.3.1.3.2. Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,100 mg DAK 16 im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.71±1.256	6.05±2.057	34.71±2.260	17.09±0.984	2.03
Z II a	96.99±1.342	14.27±4.138	48.52±2.368	12.74±0.376	3.81
Z II b	97.89±1.561	12.28±3.623	32.79±1.066	15.62±1.290	2.10
Z II c	98.56±0.932	23.06±7.582	32.60±3.107	16.98±1.287	1.92
Z III	98.63±1.012	8.29±2.570	16.69±1.337	20.03±1.724	0.83
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.96±1.242	11,46±3.912	33.06±2.158	16.49±1.216	2.00

Tier-Nr. 3 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	67.86±8.638	6.37±2.838	26.91±1.577	6.73±0.442	3.99
Z II a	87.50±1.441	5.28±2.061	21.95±1.159	4.99±0.489	4.40
Z II b	98.92±0.435	8.57±2.623	20.03±1.624	5.13±0.167	3.90
Z II c	97.81±1.021	5.53±2.654	8.60±0.352	5.69±0.359	1.51
Z III	90.91±1.873	7.20±2.444	11.29±0.762	5.98±0.299	1.89
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	88.60±4.036	6.53±2.568	17.76±1.198	5.70±0.369	3.11

Tabelle 3.3.1.3.3. A Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,100 mg Oxaceprol im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.65±0.745	16.81±3.998	67.33±3.797	6.92±0.184	9.73
Z II a	99.84±1.505	11.79±2.401	34.35±1.727	5.29±0.079	6.49
Z II b	99.87±0.432	12.20±3.394	24.44±1.522	4.25±0.224	5.75
Z II c	99.50±1.487	11.12±3.214	13.86±0.935	6.92±0.405	2.00
Z III	98.94±1.721	7.77±2.797	15.95±0.520	1.57±0.023	10.16
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	99.58±1.279	13.03±2.810	31.19±2.042	4.99±0.226	6.25

Tier-Nr. 1 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.50±1.729	12.50±3.435	46.73±2.804	4.00±0.102	11.68
Z II a	97.31±1.607	26.37±4.998	56.34±2.893	4.74±0.123	11.89
Z II b	98.39±2.740	27.47±5.240	44.83±6.012	4.38±0.210	10.23
Z II c	99.13±1.165	24.07±6.763	41.32±2.016	2.74±0.051	15.08
Z III	98.22±0.776	20.07±4.461	26.80±1.340	3.03±0.172	8.84
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	98.31±1.734	20.15±4.679	43.20±3.413	3.78±0.143	11.43

Tabelle 3.3.1.3.3. A Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,100 mg Oxaceprol im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.70±1.363	14.22±3.702	65.97±4.453	2.42±0.128	27.26
Z II a	96.21±1.241	11.11±3.511	45.94±2.297	1.38±0.027	33.29
Z II b	94.50±0.608	16.57±3.978	66.82±2.278	5.59±0.101	11.95
Z II c	95.73±0.754	11.81±3.630	48.00±6.711	4.76±0.251	10.08
Z III	99.59±1.577	4.39±2.001	8.64±0.884	21.15±1.239	0.41
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.14±1.168	10.26±3.195	47.07±3.902	7.06±0.571	6.67

Tier-Nr. 2 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	94.17±1.431	5.70±2.387	26.66±1.800	0.93±0.013	28.67
Z II a	95.14±1.298	10.16±3.185	28.57±1.428	1.26±0.024	22.67
Z II b	98.63±0.566	18.71±4.296	34.19±1.114	1.75±0.035	19.54
Z II c	95.76±0.792	10.68±3.213	12.48±1.249	3.22±0.189	3.88
Z III	96.30±1.338	2.81±1.678	3.60±0.504	5.10±0.269	0.71
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	96.00±1.137	8.45±2.885	14.63±1.291	2.45±0.148	5.97

Tabelle 3.3.1.3.3. A Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,100 mg Oxaceprol im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	93.07±2.327	11.26±3.255	53.62±3.147	3.36±0.138	15.96
Z II a	99.90±0.376	7.95±2.810	25.20±1.063	0.76±0.047	33.16
Z II b	98.56±1.560	29.00±4.185	54.66±1.782	3.51±0.289	15.57
Z II c	97.59±2.256	12.23±2.495	16.33±1.643	0.83±0.084	19.67
Z III	97.13±1.499	4.44±2.098	6.28±0.503	0.29±0.170	21.65
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.25±1.751	12.44±2.797	31.22±1.853	1.75±0.168	17.84

Tier-Nr. 3 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	95.87±1.803	8.22±2.856	30.41±1.521	6.11±0.159	5.14
Z II a	98.84±2.887	21.54±4.141	61.61±3.007	3.93±0.110	15.68
Z II b	96.67±0.779	5.89±2.406	13.11±1.050	0.36±0.006	36.42
Z II c	98.31±1.449	10.86±2.999	13.19±0.890	3.44±0.172	3.83
Z III	99.26±2.651	3.75±1.935	5.72±0.187	2.60±0.088	2.20
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.79±2.065	9.90±2.954	24.81±1.630	3.29±0.122	7.54

Tabelle 3.3.1.3.3. A Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,100 mg Oxaceprol im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 4

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	88.59±1.346	6.10±1.989	55.26±2.255	0.935±0.084	59.10
Z II a	98.11±0.432	9.31±2.673	27.59±1.812	0.240±0.173	114.96
Z II b	98.63±0.710	11.75±3.288	39.01±1.158	0.711±0.064	94.91
Z II c	91.90±2.107	7.80±2.372	32.23±1.495	0.715±0.051	77.66
Z III	98.87±0.871	6.89±2.481	44.31±1.723	0.549±0.044	80.71
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.22±1.241	8.77±2.596	39.68±1.727	0.51 ±0.030	77.80

Tier-Nr. 4 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.62±0.125	6.34±0.518	45.73±2.480	4.12±0.121	11.20
Z II a	98.11±0.107	7.12±1.668	52.64±1.539	4.65±0.156	11.32
Z II b	98.13±0.131	6.93±1.632	34.83±1.151	3.93±0.210	8.86
Z II c	98.89±0.122	3.21±0.792	25.80±1.016	2.47±0.117	10.44
Z III	96.35±0.089	2.85±0.688	16.05±2.110	6.43±0.359	2.50
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.82±0.116	5.21±0.821	35.01±1.751	4.32±0.212	8.10

Tabelle 3.3.1.3.3. A Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,100 mg Oxaceprol im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 5

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	94.07±1.237	10.18±2.989	47.31±2.315	0.911±0.101	51.93
Z II a	95.90±0.876	11.57±3.011	34.53±1.872	0.352±0.085	98.10
Z II b	97.56±1.506	12.81±3.113	30.44±1.922	0.415±0.092	73.35
Z II c	96.59±1.152	11.12±2.514	29.86±1.935	0.530±0.112	56.34
Z III	91.18±1.487	3.11±1.763	24.31±1.561	0.492±0.035	49.41
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	95.06±1.273	8.95±2.510	33.29±1.936	0.54 ±0.089	61.65

Tier-Nr. 5 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.51±0.142	4.21±0.259	20.41±1.251	1.03±0.096	19.81
Z II a	97.13±0.152	3.93±0.210	28.16±2.107	1.62±0.153	13.36
Z II b	98.93±0.112	2.60±0.272	20.11±1.050	1.57±0.122	12.81
Z II c	99.31±0.138	3.44±0.388	20.91±0.899	3.22±0.210	6.49
Z III	97.52±0.419	3.21±0.304	10.91±1.204	2.36±0.172	4.62
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	98.28±0.224	3.35±0.283	20.10±0.453	1.96±0.156	10.25

Tabelle 3.3.1.3.3. B Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,200 mg Oxaceprol im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.22±3.254	10.79±3.254	49.92±2.496	2.08±0.028	24.00
Z II a	99.42±0.499	22.70±4.761	74.07±3.704	2.17±0.042	34.13
Z II b	98.18±1.106	16.93±3.911	38.07±1.241	1.45±0.018	26.25
Z II c	92.21±0.652	14.04±3.656	29.99±2.024	0.63±0.033	47.60
Z III	98.62±0.201	12.68±3.561	24.82±0.988	0.66±0.012	37.61
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.33±0.805	14.62±3.748	43.37±2.305	1.40±0.029	30.98

Tier-Nr. 1 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.23±0.844	4.00±1.395	36.09±2.725	1.93±0.032	18.70
Z II a	99.30±0.241	10.74±2.319	61.78±3.089	4.08±0.057	15.14
Z II b	99.41±1.035	1.89±1.006	9.64±0.314	0.59±0.034	16.34
Z II c	94.26±0.371	13.62±3.100	66.75±1.722	3.83±0.054	17.43
Z III	95.96±0.571	12.55±2.499	36.11±2.249	2.24±0.026	16.12
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.63±0.679	6.64±2.476	34.85±2.240	2.53±0.042	13.77

Tabelle 3.3.1.3.3. B Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,200 mg Oxaceprol im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.58±1.438	12.86±3.546	53.41±3.477	4.84±0.097	11.03
Z II a	98.59±1.304	26.37±5.053	74.33±3.716	6.60±0.127	11.26
Z II b	99.31±1.502	20.22±4.479	43.20±1.136	2.98±0.047	14.50
Z II c	98.31±1.698	37.17±5.991	66.17±2.633	5.12±0.146	12.92
Z III	98.46±1.511	2.11±1.445	3.23±0.258	0.10±0.005	32.30
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	98.65±1.496	18.20±4.199	48.07±2.615	3.93±0.099	12.23

Tier-Nr. 2 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.15±0.307	5.93±2.443	22.49±1.464	2.47±0.055	9.10
Z II a	98.42±0.078	10.91±3.300	42.57±2.128	1.78±0.035	23.91
Z II b	97.64±0.833	6.94±2.630	15.88±0.514	2.79±0.084	5.69
Z II c	93.54±0.270	6.79±2.572	14.25±0.375	0.13±0.007	109.61
Z III	97.97±0.447	9.83±3.035	20.42±1.207	1.07±0.056	19.08
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	96.94±0.462	7.99±2.804	23.12±1.306	1.65±0.054	14.01

Tabelle 3.3.1.3.3. B Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,200 mg Oxaceprol im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.07±1.693	7.39±2.725	31.56±1.629	0.55±0.027	57.38
Z II a	99.42±0.414	10.41±3.118	38.92±2.425	1.87±0.053	20.81
Z II b	98.37±1.440	5.69±2.836	14.36±1.005	0.56±0.046	25.64
Z II c	94.20±1.148	23.95±4.859	53.29±1.732	2.66±0.182	20.03
Z III	94.94±0.706	8.45±2.901	14.50±0.739	1.52±0.018	9.54
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.00±1.177	9.75±3.149	30.53±1.618	1.43±0.088	21.35

Tier-Nr. 3 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.56±0.331	6.50±2.717	48.63±3.258	0.48±0.007	101.31
Z II a	98.18±0.241	6.18±1.813	28.06±1.403	0.56±0.011	50.11
Z II b	98.50±0.623	14.06±3.451	47.80±1.558	4.13±0.049	11.57
Z II c	98.60±0.762	6.40±2.778	23.78±3.324	1.12±0.059	21.23
Z III	75.20±0.491	7.84±2.846	25.13±2.522	3.23±0.189	7.78
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	94.01±0.525	7.87±2.915	34.68±2.546	1.90±0.091	18.25

Tabelle 3.3.1.3.3. B Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,200 mg Oxaceprol im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 4

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.13±1.539	4.87±0.207	29.29±1.692	4.48±0.121	6.54
Z II a	98.24±1.204	5.99±1.447	64.70±3.640	5.60±0.327	11.55
Z II b	98.87±1.210	4.23±1.056	48.25±1.163	4.21±0.119	11.46
Z II c	98.00±1.085	4.36±0.281	39.99±1.425	2.77±0.095	14.44
Z III	93.01±1.080	4.11±0.652	29.17±1.692	2.89±0.046	10.09
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	97.25±1.235	4.49±0.512	42.28±2.115	3.99±0.171	10.60

Tier-Nr. 4 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.72±0.111	6.62±2.583	26.09±2.425	5.81±0.081	4.49
Z II a	99.01±0.113	9.19±3.324	40.87±2.283	8.33±0.162	4.91
Z II b	99.55±0.126	8.94±3.552	34.99±2.015	7.99±0.145	4.38
Z II c	99.67±0.073	7.79±2.956	43.81±1.876	7.85±0.414	5.58
Z III	99.70±0.095	9.38±3.123	28.74±1.993	7.82±0.427	3.67
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	99.53±0.105	8.21±3.111	34.90±2.128	7.56±0.285	4.62

Tabelle 3.3.1.3.3. B Einfluß zweier intraartikulärer Injektionen von 0,200 mg Oxaceprol im Abstand von drei Tagen auf die ^{3}H-Glucosamin-Inkorporation in den Gelenkknorpel gesunder Hühner

Tier-Nr. 5

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	97.69±1.101	2.11±0.045	31.44±1.669	2.84±0.087	11.07
Z II a	98.20±0.775	4.04±0.183	60.33±3.761	4.22±1.111	14.30
Z II b	96.97±0.288	4.41±0.255	48.26±2.245	2.68±1.002	18.01
Z II c	95.37±0.361	3.95±0.211	33.92±1.732	2.50±1.100	13.57
Z III	93.87±0.830	2.22±0.088	23.05±1.098	1.01±0.049	22.82
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	96.42±0.737	3.51±0.187	39.40±2.288	2.65±0.832	14.87

Tier-Nr. 5 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	99.51±0.103	6.49±4.547	27.45±1.853	5.55±0.108	4.95
Z II a	99.43±0.131	6.28±5.506	14.09±0.704	3.81±0.045	3.70
Z II b	99.00±0.143	9.06±7.303	46.73±1.527	6.60±0.192	7.09
Z II c	99.61±0.120	7.50±6.921	44.87±6.273	5.21±0.275	8.61
Z III	98.70±0.195	7.48±4.735	36.21±3.439	2.88±0.169	12.57
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	99.25±0.142	7.79±6.470	33.89±3.389	4.81±0.176	7.04

Tabelle 3.3.2.1.1. Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach sechzehn intraartikulären Injektionen von 2 mg Diclofenac im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke (Kontrolle = rechte Gelenke)

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	77.27±1.174	3.41±1.636	8.94±0.474	1.31±0.013	6.82
Z II a	77.78±1.369	17.71±8.132	27.58±1.379	2.91±0.069	9.48
Z II b	70.00±2.612	9.28±3.998	12.39±0.523	1.92±0.029	6.45
Z II c	60.00±3.115	4.00±2.449	4.00±0.560	1.52±0.096	2.63
Z III	88.89±2.713	2.62±0.596	4.30±0.399	2.27±0.126	1.89
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	74.79±2.330	6.49±3.768	11.44±0.758	1.99±0.079	5.75

Tier-Nr. 1 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	80.95±1.925	4.00±1.707	10.68±0.569	2.54±0.042	4.20
Z II a	50.15±2.641	2.50±1.689	3.82±0.183	1.66±0.038	1.98
Z II b	98.23±0.439	2.89±1.309	5.34±0.207	2.51±0.125	2.13
Z II c	92.31±1.213	3.08±1.570	5.21±0.625	1.87±0.112	2.79
Z III	77.78±1.493	3.12±1.318	5.62±0.506	2.30±0.135	2.44
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	79.88±1.707	3.31±1.541	6.13±0.458	2.18±0.099	2.81

Tabelle 3.3.2.1.1. Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach sechzehn intraartikulären Injektionen von 2 mg Diclofenac im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke (Kontrolle = rechte Gelenke

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	75.00±1.423	8.75±1.919	21.57±1.417	1.31±0.020	16.47
Z II a	98.36±0.621	6.00±1.249	16.02±0.721	1.79±0.038	8.95
Z II b	98.11±0.511	23.69±3.733	45.69±1.572	2.72±0.042	16.80
Z II c	97.95±1.632	21.17±5.498	48.44±5.812	2.46±0.134	19.69
Z III	80.00±2.441	8.12±2.378	11.56±1.087	2.27±0.131	5.09
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	89.88±1.503	13.27±3.006	28.66±2.827	2.11±0.088	13.58

Tier-Nr. 2 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.63±1.013	11.69±3.481	47.18±2.713	9.83±0.108	4.80
Z II a	78.95±2.641	8.67±2.982	18.69±0.748	4.19±0.040	4.46
Z II b	98.82±0.394	6.55±2.341	14.31±0.323	2.83±0.026	5.06
Z II c	93.75±1.925	8.47±2.872	14.74±1.913	1.95±0.095	7.56
Z III	97.58±1.439	9.30±2.381	15.51±1.396	1.66±0.080	9.34
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	93.55±1.669	9.30±3.014	22.09±1.651	4.09±0.019	5.40

Tabelle 3.3.2.1.1. Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach sechzehn intraartikulären Injektionen von 2 mg Diclofenac im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke (Kontrolle = rechte Gelenke)

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.12±0.421	19.82±6.042	41.57±2.806	4.73±0.066	8.79
Z II a	88.89±1.623	29.31±4.500	40.43±2.021	3.92±0.076	10.31
Z II b	93.33±1.442	26.71±3.349	44.94±1.465	4.67±0.085	9.62
Z II c	72.22±2.718	12.38±3.594	15.91±2.225	2.86±0.151	5.56
Z III	83.33±1.914	6.60±2.213	11.75±1.164	1.01±0.064	11.63
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	87.13±1.786	20.12±4.146	30.92±2.020	3.44±0.094	8.99

Tier-Nr. 3 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	90.62±1.378	5.51±2.199	35.83±2.419	3.87±0.054	9.26
Z II a	98.29±0.432	4.08±2.929	12.87±0.643	1.98±0.038	6.50
Z II b	75.00±2.251	3.67±1.167	4.65±0.151	1.28±0.015	3.63
Z II c	61.10±2.335	3.33±1.760	3.15±0.440	0.67±0.035	4.70
Z III	98.91±0.712	4.17±1.869	8.33±0.829	1.17±0.069	7.12
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	84.76±1.619	4.58±2.215	12.97±1.197	1.79±0.046	7.24

Tabelle 3.3.2.1.1. Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach sechzehn intraartikulären Injektionen von 2 mg Diclofenac im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke (Kontrolle = rechte Gelenke)

Tier-Nr. 4

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	85.71±1.303	6.67±2.721	21.36±1.235	2.56±0.040	8.34
Z II a	88.89±1.278	14.12±3.008	33.51±1.753	3.58±0.077	9.36
Z II b	98.35±0.887	14.00±3.526	32.28±1.252	5.58±0.122	5.78
Z II c	80.00±2.123	7.25±1.657	9.29±1.115	1.79±0.077	5.19
Z III	83.33±1.914	6.50±2.320	7.88±0.677	1.68±0.092	4.69
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	87.26±1.568	9.92±2.829	20.86±1.254	3.04±0.086	6.86

Tier-Nr. 4 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	67.37±1.749	3.00±1.577	7.21±0.433	2.03±0.083	3.55
Z II a	78.95±2.368	4.53±1.867	9.13±0.475	2.16±0.128	4.23
Z II b	81.25±4.062	4.23±2.642	6.67±0.157	1.12±0.091	5.95
Z II c	62.10±2.037	2.00±1.463	2.03±0.264	1.41±0.060	1.44
Z III	63.64±2.112	3.29±1.778	3.76±0.301	1.07±0.092	3.51
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	70.66±2.599	3.54±1.931	5.76±0.346	1.56±0.093	3.69

Tabelle 3.3.2.1.1. Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach sechzehn intraartikulären Injektionen von 2 mg Diclofenac im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke (Kontrolle = rechte Gelenke)

Tier-Nr. 5

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	86.75±1.922	8.53±3.038	21.89±1.478	2.96±0.041	7.39
Z II a	90.98±2.178	18.33±5.840	42.63±2.775	6.89±0.224	6.19
Z II b	97.52±0.787	17.58±4.940	41.54±2.027	6.78±0.397	6.13
Z II c	89.60±2.138	11.65±3.956	18.66±1.495	2.13±0.025	8.76
Z III	82.23±2.914	8.22±2.466	11.53±1.099	1.87±0.109	6.17
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	89.42±2.103	14.45±4.699	27.25±1.867	4.13±0.211	6.60

Tier-Nr. 5 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	70.28±2.211	5.04±1.795	14.27±0.719	3.08±0.125	4.63
Z II a	80.67±2.113	9.43±3.004	14.38±1.031	3.16±0.118	4.55
Z II b	86.54±4.602	6.25±1.756	7.79±0.265	1.57±0.042	4.96
Z II c	79.33±2.638	5.59±2.156	6.35±0.457	1.62±0.079	3.92
Z III	78.22±1.947	6.20±1.860	6.21±0.433	1.56±0.035	3.98
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	79.00±2.873	6.43±2.150	9.80±0.640	2.20±0.088	4.45

Tabelle 3.3.2.1.1. Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach sechzehn intraartikulären Injektionen von 2 mg Diclofenac im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke (Kontrolle = rechte Gelenke)

Tier-Nr. 6

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	88.89±2.211	11.00±5.493	23.50±1.586	3.39±0.047	6.93
Z II a	92.00±3.878	22.74±2.815	51.72±2.586	9.29±0.181	5.57
Z II b	98.22±0.788	22.00±3.630	55.49±1.809	8.30±0.098	6.68
Z II c	98.61±0.812	19.86±3.582	35.22±4.924	3.47±0.183	10.15
Z III	81.82±3.463	11.00±2.865	16.85±1.701	2.00±0.117	8.42
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	91.91±2.577	19.18±3.544	36.56±2.815	5.29±0.135	6.91

Tier-Nr. 6 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	74.19±3.126	7.43±2.447	21.73±0.869	1.84±0.037	11.81
Z II a	93.75±1.523	15.47±3.753	17.20±0.791	2.08±0.045	8.27
Z II b	92.31±1.612	8.25±2.197	8.89±0.256	1.74±0.037	5.11
Z II c	98.67±0.778	9.90±3.164	13.22±1.031	1.74±0.081	7.60
Z III	91.67±2.228	8.90±2.676	11.88±1.081	2.06±0.108	5.77
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	90.11±2.013	9.84±2.870	14.58±0.858	1.89±0.068	7.71

Tabelle 3.3.2.1.1. Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach sechzehn intraartikulären Injektionen von 2 mg Diclofenac im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke (Kontrolle = rechte Gelenke

Tier-Nr. 7

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	79.34±1.206	8.70±3.099	16.52±1.115	2.51±0.038	6.58
Z II a	90.60±1.595	20.77±6.617	47.79±2.389	7.52±0.119	6.35
Z II b	89.44±1.621	18.00±5.220	38.59±1.183	6.33±0.081	6.10
Z II c	97.25±0.856	15.56±5.284	28.26±3.674	3.47±0.184	8.14
Z III	90.73±0.995	10.25±3.075	16.96±1.686	1.80±0.078	9.42
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	89.47±1.292	14.86±4.976	29.62±2.222	4.33±0.110	6.84

Tier-Nr. 7 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	90.26±1.738	5.15±1.700	6.25±0.315	2.14±0.059	2.92
Z II a	95.29±1.432	4.80±1.349	5.77±0.278	1.55±0.060	3.72
Z II b	78.12±2.521	3.80±1.364	9.13±0.290	1.68±0.062	5.43
Z II c	70.10±2.533	3.21±1.027	11.43±0.571	2.38±0.101	4.80
Z III	89.19±1.712	4.71±2.213	10.25±1.212	2.42±0.092	4.23
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	84.59±2.038	4.40±1.556	8.57±0.641	2.03±0.077	4.22

Tabelle 3.3.2.1.1. Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach sechzehn intraartikulären Injektionen von 2 mg Diclofenac im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke (Kontrolle = rechte Gelenke)

Tier-Nr. 8

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	65.38±0.994	4.76±1.854	12.02±0.691	1.63±0.033	7.37
Z II a	86.36±1.623	19.47±3.555	42.96±2.149	6.19±0.240	6.94
Z II b	81.00±1.426	14.08±4.632	20.51±2.461	4.14±0.174	4.95
Z II c	98.17±1.414	11.50±3.067	22.62±1.922	2.96±0.156	7.63
Z III	98.69±0.711	9.75±2.514	17.36±1.579	1.68±0.095	10.33
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	85.92±1.277	12.13±3.304	23.09±1.862	3.32±0.156	6.95

Tier-Nr. 8 K o n t r o l l e

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	88.00±3.428	13.77±3.059	44.25±2.986	7.88±0.323	5.61
Z II a	85.71±6.529	10.83±2.746	43.39±2.256	4.89±0.095	8.87
Z II b	90.91±4.309	16.70±4.264	31.86±1.038	2.38±0.052	13.39
Z II c	98.57±1.359	15.86±3.236	20.43±2.566	1.82±0.096	11.22
Z III	91.67±1.591	11.73±2.961	16.39±1.574	1.44±0.082	11.38
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	90.97±3.932	13.78±3.228	31.26±2.197	3.68±0.162	8.49

Tabelle 3.3.2.1.2. Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach zwölf intraartikulären Injektionen von 0,5 mg Fenbufen im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	93.03±1.414	5.28±1.880	28.19±1.903	1.32±0.019	21.36
Z II a	91.43±1.317	5.79±2.396	11.75±0.587	0.61±0.012	19.26
Z II b	84.27±1.606	10.78±3.255	19.69±0.642	0.73±0.009	26.97
Z II c	84.50±1.744	6.59±2.238	11.11±1.553	1.12±0.059	9.92
Z III	80.13±1.410	6.21±2.312	12.75±1.211	0.70±0.041	18.21
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	86.67±1.506	6.61±2.372	16.70±1.285	0.90±0.034	18.56

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	89.19±2.238	2.88±1.026	8.25±0.475	2.04±0.084	4.04
Z II a	87.62±3.864	10.57±3.279	22.59±1.129	1.42±0.074	15.91
Z II b	80.34±2.169	8.84±2.837	15.74±0.513	0.55±0.010	28.62
Z II c	85.80±1.764	2.93±1.701	5.58±0.508	1.61±0.093	3.47
Z III	88.17±1.552	2.44±1.552	5.58±0.508	2.72±0.187	2.05
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	86.22±2.456	5.25±2.157	11.55±0.648	1.67±0.106	6.92

Tabelle 3.3.2.1.2. Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach zwölf intraartikulären Injektionen von 0,5 mg Fenbufen im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	94.31±2.896	11.38±3.237	30.39±1.899	4.08±0.077	7.45
Z II a	93.23±1.539	2.64±1.701	6.67±0.349	0.50±0.025	13.34
Z II b	90.39±2.946	2.86±1.690	6.10±0.243	0.35±0.006	17.43
Z II c	87.85±1.652	3.55±1.900	9.45±1.326	0.21±0.012	45.00
Z III	79.64±1.402	23.16±4.981	5.06±1.457	0.10±0.059	50.60
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	89.09±2.197	8.20±2.847	11.53±1.238	1.05±0.045	10.98

Tier-Nr. 4

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	90.87±1.817	3.02±1.773	6.97±0.470	0.94±0.031	7.41
Z II a	91.19±2.739	4.15±2.135	7.53±0.375	0.98±0.048	7.68
Z II b	87.80±0.632	8.77±2.691	12.54±0.781	0.39±0.037	32.15
Z II c	73.50±1.374	13.08±3.601	24.94±0.746	2.27±0.120	10.99
Z III	66.61±1.172	13.24±3.583	35.35±2.036	0.14±0.008	25.52
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	81.99±1.701	7.55±2.684	17.47±1.065	0.94±0.062	18.58

Tabelle 3.3.2.1.2. Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach zwölf intraartikulären Injektionen von 0,5 mg Fenbufen im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke

Tier-Nr. 5

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	92.97±1.413	1.74±1.321	9.73±0.639	0.33±0.006	29.48
Z II a	93.84±2.138	1.11±1.058	2.68±0.143	2.23±0.043	1.20
Z II b	80.66±1.581	8.44±2.905	20.81±0.678	2.54±0.030	8.19
Z II c	83.05±0.731	7.92±2.794	8.28±1.157	6.37±0.373	1.30
Z III	86.67±1.525	7.87±2.814	15.75±1.565	1.47±0.086	10.69
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	87.44±1.544	4.51±2.109	11.45±0.967	2.59±0.173	4.42

Tabelle 3.3.2.1.2. Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach zwölf intraartikulären Injektionen von 2 mg Fenbufen im Abstand von einer Woche in die rechten Kniegelenke

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	90.90±1.382	4.21±2.019	11.23±0.758	0.52±0.007	21.60
Z II a	92.76±1.336	1.54±1.239	3.33±0.166	0.40±0.008	8.32
Z II b	79.15±1.569	10.86±3.293	21.74±0.709	0.15±0.008	144.93
Z II c	82.19±0.723	16.53±4.064	24.52±3.428	0.10±0.007	245.20
Z III	65.15±1.147	10.90±3.300	25.88±1.516	0.76±0.046	34.05
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	82.03±1.264	8.28±2.863	17.34±1.741	0.39±0.022	44.46

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	83.12±2.491	10.22±3.117	47.76±3.224	8.10±0.332	5.90
Z II a	87.92±1.266	7.83±2.758	15.06±0.754	0.78±0.015	19.31
Z II b	78.00±0.562	8.05±2.853	18.20±0.593	0.26±0.005	70.00
Z II c	74.66±0.657	13.55±3.581	29.41±4.111	1.68±0.089	17.51
Z III	55.02±2.792	11.03±3.392	29.46±1.659	2.52±0.148	11.69
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	74.74±1.808	9.97±3.105	27.98±2.489	2.67±0.167	10.48

Tabelle 3.3.2.1.2. Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach zwölf intraartikulären Injektionen von 2 mg Fenbufen im Abstand von einer Woche in die rechten Kniegelenke

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	79.11±5.150	11.66±3.404	46.71±2.929	2.73±0.089	17.11
Z II a	65.78±1.236	15.36±3.910	41.01±2.424	5.74±0.112	7.14
Z II b	82.07±2.052	12.26±3.500	27.08±0.712	1.51±0.079	17.93
Z II c	85.15±1.498	5.11±2.162	10.73±1.499	4.43±0.264	2.42
Z III	79.69±2.183	4.95±2.222	10.57±0.868	7.87±0.447	1.34
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	78.36±2.802	10.28±3.193	27.22±1.892	4.46±0.243	6.10

Tier-Nr. 4

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	95.36±2.393	1.79±1.307	6.31±0.363	0.10±0.006	63.10
Z II a	89.61±1.290	8.50±2.861	21.09±1.054	1.20±0.023	17.57
Z II b	91.29±0.657	1.71±1.310	3.98±0.035	0.35±0.004	11.37
Z II c	76.54±1.673	24.49±4.945	45.77±6.398	1.89±0.099	24.32
Z III	63.13±1.111	15.91±3.798	29.75±1.749	0.10±0.003	297.50
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	83.19±1.539	6.70±2.486	21.38±3.008	0.73±0.046	29.29

Tabelle 3.3.2.1.2. Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach zwölf intraartikulären Injektionen von 2 mg Fenbufen im Abstand von einer Woche in die rechten Kniegelenke

Tier-Nr. 5

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	93.51±1.992	3.12±1.756	15.47±1.044	10.43±0.146	1.48
Z II a	85.15±1.226	5.81±2.403	14.23±0.712	3.73±0.073	3.81
Z II b	84.41±1.932	7.33±2.717	19.57±0.638	1.61±0.052	12.15
Z II c	71.50±0.629	13.06±3.611	24.41±1.412	0.11±0.006	221.90
Z III	79.93±1.407	15.71±3.946	27.15±2.498	1.13±0.066	24.03
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	82.90±1.522	7.42±2.694	20.17±1.431	3.40±0.082	5.93

Tabelle 3.3.2.2.1. A Aufnahme ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach sechs intraartikulären Injektionen von 1 mg Dexamethason im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.86±1.041	9.31±1.673	36.15±2.375	4.89±0.071	7.39
Z II a	98.32±0.432	15.82±3.408	42.24±2.112	6.73±0.131	6.28
Z II b	87.50±1.540	18.00±4.562	33.64±1.097	5.02±0.091	6.70
Z II c	98.69±0.711	6.10±1.889	11.03±1.542	2.80±0.148	3.94
Z III	72.77±1.116	6.87±1.641	8.60±0.504	1.33±0.078	6.47
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	91.23±1.038	10.86±2.666	26.33±1.669	4.15±0.108	6.34

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	83.33±1.333	7.80±1.372	31.61±1.821	4.06±0.166	7.79
Z II a	98.62±1.647	14.67±2.768	44.22±2.149	3.84±0.061	11.52
Z II b	90.91±1.564	18.70±2.285	33.30±1.085	2.80±0.051	11.89
Z II c	61.54±1.132	11.75±4.288	15.83±2.138	1.36±0.072	11.64
Z III	98.75±0.434	6.45±1.865	12.63±1.149	0.96±0.056	13.16
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	86.63±1.296	11.52±2.464	27.52±1.732	2.60±0.088	10.58

Tabelle 3.3.2.2.1. B ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach sechs intraartikulären Injektionen einer Kombination bestehend aus 1 mg Dexamethason und 0,1 mg GAGPS im Abstand von einer Woche in die rechten Kniegelenke

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.59±1.498	25.00±9.817	40.05±2.704	8.89±0.124	4.50
Z II a	97.98±1.411	23.67±8.570	31.59±1.579	3.50±0.068	9.02
Z II b	98.26±0.432	4.12±0.989	5.87±0.191	1.01±0.012	5.81
Z II c	66.67±1.173	7.50±2.466	7.29±1.019	0.80±0.042	9.11
Z III	50.00±1.421	1.33±0.333	0.96±0.095	1.47±0.086	0.65
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	82.30±1.056	10.14±5.039	17.15±1.476	3.13±0.076	5.48

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.13±0.432	15.33±1.831	71.64±4.062	7.45±0.194	9.62
Z II a	97.96±0.705	21.82±4.628	58.26±3.105	4.94±0.106	11.79
Z II b	90.00±2.483	9.78±4.122	16.79±0.638	2.99±0.058	5.61
Z II c	85.71±1.526	10.58±3.068	17.84±2.212	0.59±0.035	30.24
Z III	84.61±1.702	8.91±1.750	20.13±1.836	1.22±0.073	16.50
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	91.28±1.554	13.67±3.057	36.93±2.639	3.44±0.108	10.73

Tabelle 3.3.2.2.1. C Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach zwölf intraartikulären Injektionen von 1 mg Dexamethason im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	89.74±1.346	4.69±2.154	18.80±1.235	2.06±0.032	9.13
Z II a	84.74±3.508	9.56±3.126	28.94±1.447	6.77±0.126	4.27
Z II b	91.45±3.584	6.37±2.389	15.33±0.492	2.64±0.049	5.81
Z II c	77.59±2.112	19.66±4.425	43.46±2.746	2.47±0.134	17.59
Z III	88.35±1.360	8.10±2.954	21.62±0.841	1.82±0.120	11.88
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	86.37±2.580	9.17±3.019	25.63±1.556	3.15±0.102	8.14

Tabelle 3.3.2.2.1. D ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach zwölf intraartikulären Injektionen einer Kombination bestehend aus 1 mg Dexamethason und 0,1 mg GAGPS im Abstand von einer Woche in die rechten Kniegelenke

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	86.36±0.833	5.00±2.231	24.29±1.581	2.76±0.090	8.80
Z II a	81.02±2.033	11.95±3.451	34.57±1.532	1.72±0.061	20.10
Z II b	80.98±1.522	12.97±3.502	34.64±1.732	1.82±0.028	19.03
Z II c	85.48±1.427	11.90±3.448	25.99±1.586	1.68±0.098	15.47
Z III	85.86±0.755	10.41±3.162	25.26±1.655	0.30±0.017	84.20
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	83.94±1.396	9.77±3.081	28.95±1.619	1.66±0.067	17.44

Tabelle 3.3.2.2.2. A Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach sechs intraartikulären Injektionen von 1 mg Dexamethason im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.65±1.238	9.00±2.768	32.04±2.355	7.32±0.106	4.38
Z II a	86.67±1.629	9.85±3.121	20.11±0.945	5.77±0.107	3.48
Z II b	97.93±0.431	14.87±5.524	26.49±0.697	4.25±0.050	6.23
Z II c	98.01±0.706	19.17±4.424	34.12±4.266	1.95±0.1-3	17.50
Z III	85.00±1.785	6.06±2.449	10.17±0.977	1.28±0.073	7.94
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	93.25±1.269	10.97±3.522	24.59±2.284	4.11±0.091	5.98

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.59±1.084	12.59±3.206	38.10±3.821	6.41±0.375	5.94
Z II a	97.95±1.489	18.69±4.894	36.05±5.039	5.45±0.288	6.61
Z II b	98.01±0.431	23.70±4.372	39.71±1.294	3.63±0.043	10.94
Z II c	88.90±1.565	8.62±2.899	14.18±0.709	1.57±0.031	9.03
Z III	79.17±2.122	6.32±2.835	10.17±0.687	2.27±0.032	4.48
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	92.60±1.451	14.31±5.866	27.64±2.920	3.87±0.213	7.14

Tabelle 3.3.2.2.2. A Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach sechs intraartikulären Injektionen von 1 mg Dexamethason im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.66±1.085	16.17±4.966	58.53±3.371	8.52±0.349	6.87
Z II a	98.21±0.432	10.81±2.123	30.71±1.535	2.88±0.046	10.66
Z II b	97.95±0.699	16.27±3.793	24.51±1.549	3.18±0.057	7.71
Z II c	81.82±1.407	13.22±5.878	21.36±2.243	1.36±0.072	15.71
Z III	70.00±1.064	3.00±1.534	6.89±0.661	2.03±0.115	3.39
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	89.33±0.996	12.84±4.056	28.40±2.078	3.79±0.171	7.49

Tabelle 3.3.2.2.2. B ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach sechs intraartikulären Injektionen einer Kombination bestehend aus 1 mg Dexamethason und 0,1 mg DAK 16 im Abstand von einer Woche in die rechten Kniegelenke

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.63±0.404	12.00±3.247	34.34±2.129	6.49±0.136	5.29
Z II a	98.21±1.233	14.37±4.066	30.71±1.290	2.62±0.043	11.72
Z II b	75.00±1.320	12.00±3.000	19.23±0.005	1.71±0.027	11.25
Z II c	75.00±1.575	17.67±4.971	21.76±2.611	1.52±0.128	14.32
Z III	77.78±0.684	6.57±3.957	7.21±0.613	1.15±0.072	6.27
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	84.92±1.129	12.31±3.672	22.65±1.636	2.70±0.092	8.39

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	98.13±9.432	21.92±4.039	58.61±3.956	8.52±0.119	6.88
Z II a	98.20±0.864	13.80±4.361	30.71±1.535	2.88±0.056	10.66
Z II b	76.47±1.346	15.54±4.042	24.51±0.799	3.18±0.037	7.71
Z II c	97.33±0.934	13.71±6.578	21.36±2.986	1.36±0.072	15.71
Z III	77.78±1.369	4.43±1.232	6.89±0.690	2.03±0.119	3.39
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	89.58±1.048	15.04±4.299	28.42±2.368	3.59±0.069	7.92

Tabelle 3.3.2.2.2. B ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach sechs intraartikulären Injektionen einer Kombination bestehend aus 1 mg Dexamethason und 0,1 mg DAK-16 im Abstand von einer Woche in die rechten Kniegelenk

Tier-Nr. 3

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	88.59±1.346	6.75±2.386	16.96±1.144	5.61±0.078	3.02
Z II a	98.11±0.432	26.60±9.896	39.47±1.973	6.27±0.124	6.29
Z II b	98.63±0.710	6.60±2.952	8.01±0.261	2.24±0.099	3.58
Z II c	99.01±0.436	23.83±9.730	34.71±4.853	1.39±0.073	24.97
Z III	98.87±0.871	13.00±3.753	23.15±2.301	2.48±0.145	9.33
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	96.64±0.789	14.42±6.398	24.06±2.612	3.15±0.099	7.64

Tabelle 3.3.2.2.2. C Aufnahme von ^{3}H-Glucosamin in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach zwölf intraartikulären Injektionen von 1 mg Dexamethason im Abstand von einer Woche in die linken Kniegelenke

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	87.01±1.713	7.59±2.576	26.24±1.713	3.34±0.043	7.86
Z II a	83.26±1.495	18.93±4.315	34.46±1.682	2.12±0.042	16.25
Z II b	83.86±2.180	18.26±4.194	34.43±1.203	1.31±0.003	26.28
Z II c	95.12±1.854	6.92±2.316	14.79±0.488	0.35±0.018	42.26
Z III	95.63±1.683	6.43±2.533	11.85±0.592	0.38±0.022	31.18
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	88.98±1.799	9.82±3.333	24.35±1.243	1.50±0.030	16.23

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	95.09±1.445	1.56±1.251	7.51±0.507	0.15±0.002	50.07
Z II a	90.46±1.303	7.09±2.366	16.41±0.821	0.10±0.005	164.10
Z II b	95.49±0.687	3.68±1.898	6.76±0.220	1.70±0.020	3.98
Z II c	96.94±0.853	2.91±1.711	5.45±0.761	0.19±0.009	28.68
Z III	94.79±1.668	6.56±2.521	13.15±1.053	0.34±0.020	38.68
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	94.55±1.246	3.71±1.836	9.86±0.730	0.50±0.013	19.72

Tabelle 3.3.2.2.2. D ^{3}H-Glucosamin-Aufnahme in den tibio-femuralen Gelenkknorpel nach zwölf intraartikulären Injektionen einer Kombination bestehend aus 1 mg Dexamethason und 0,1 mg DAK-16 im Abstand von einer Woche in die rechten Kniegelenke

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	94.22±1.848	1.74±1.138	8.42±0.548	2.26±0.061	3.73
Z II a	81.29±2.040	12.99±3.600	31.21±1.523	6.58±0.177	4.74
Z II b	95.09±1.673	3.13±1.673	6.88±0.223	0.42±0.021	16.38
Z II c	90.72±0.698	8.94±2.899	16.41±1.564	0.17±0.010	96.53
Z III	90.49±1.592	8.10±2.786	15.63±1.485	0.10±0.006	156.30
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	90.36±1.637	6.26±2.424	15.71±1.210	1.91±0.084	8.22

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	96.99±1.610	1.20±1.091	4.94±0.333	0.31±0.012	15.93
Z II a	96.04±1.652	4.84±2.190	9.22±0.579	0.16±0.013	57.62
Z II b	89.46±1.574	18.61±4.134	38.23±1.246	1.11±0.021	34.44
Z II c	92.06±2.209	12.67±3.506	27.08±3.758	0.56±0.033	48.36
Z III	83.63±1.726	20.65±4.539	45.41±3.637	0.36±0.034	126.14
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	91.64±1.769	9.17±2.972	24.98±2.423	0.50±0.024	49.96

Tabelle 3.4. Verteilung von ^{3}H-Monojodacetat im tibio-femuralen Gelenkknorpel zwei Stunden nach intraartikulärer Injektion von 50 µCi

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	72.34±1.128	7.53±2.482	25.58±1.727	5.31±0.074	4.82
Z II a	79.49±1.145	13.87±3.521	34.79±2.710	4.46±0.087	7.80
Z II b	74.19±0.534	20.30±3.602	27.72±0.904	2.86±0.034	9.69
Z II c	92.86±0.817	14.61±4.064	23.07±3.225	3.97±0.210	5.81
Z III	93.75±1.650	16.47±3.104	31.40±3.139	2.16±0.127	14.54
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	82.53±1.119	13.71±3.279	28.51±2.506	3.75±0.117	7.60

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	78.00±1.549	11.23±3.315	54.95±5.485	4.11±0.241	13.37
Z II a	82.86±0.729	21.00±4.483	56.07±7.839	4.70±0.249	11.93
Z II b	88.58±0.638	19.08±4.097	41.39±1.349	3.04±0.036	13.61
Z II c	95.36±1.373	19.36±4.706	38.08±1.904	1.79±0.035	21.27
Z III	98.68±1.499	16.44±4.096	26.62±1.797	2.24±0.031	11.88
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	88.70±1.222	16.72±4.074	43.42±4.477	3.18±0.157	13.65

Tabelle 3.4. Verteilung von ^{3}H-Monojodacetat im tibio-femuralen Gelenkknorpel vier Stunden nach intraartikulärer Injektion von 50 µCi

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	88.57±1.346	9.26±2.899	25.55±1.725	4.00±0.058	6.39
Z II a	81.82±1.178	43.56±7.155	47.58±2.379	5.21±0.083	9.13
Z II b	80.00±0.576	28.33±5.149	31.29±1.026	2.67±0.031	11.72
Z II c	75.00±0.660	20.11±5.250	20.13±2.815	1.87±0.099	10.76
Z III	80.00±1.408	9.75±1.839	13.59±1.360	2.08±0.122	6.53
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	81.08±1.091	18.04±4.220	27.63±1.973	3.17±0.085	8.72

Tabelle 3.4. Verteilung von ^{3}H-Monojodacetat im tibio-femuralen Gelenkknorpel acht Stunden nach intraartikulärer Injektion von 50 µCi

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	82.35±1.029	6.28±2.211	20.64±1.170	3.74±0.153	5.52
Z II a	78.57±1.134	16.09±3.415	21.25±1.073	3.39±0.053	6.24
Z II b	98.73±0.745	24.80±4.894	31.32±0.824	1.921±0.035	16.31
Z II c	84.61±1.649	13.09±3.429	20.24±2.829	1.87±0.109	10.82
Z III	98.66±0.710	5.53±1.077	11.67±1.038	2.16±0.123	5.40
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	88.58±1.107	12.13±3.075	21.00±1.559	2.62±0.104	8.01

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	84.85±1.289	5.86±2.194	21.89±1.642	2.16±0.089	10.13
Z II a	75.00±1.117	9.11±3.434	12.87±0.836	2.03±0.036	6.34
Z II b	61.54±0.609	15.37±4.183	17.28±1.076	1.65±0.026	10.47
Z II c	66.67±1.107	17.60±4.703	16.77±2.159	1.44±0.076	11.65
Z III	93.75±0.825	7.07±1.626	10.12±0.877	1.36±0.082	7.44
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	76.36±1.018	9.30±2.788	15.79±1.413	1.73±0.067	9.13

Tabelle 3.4. Verteilung von ^{3}H-Monojodacetat im tibio-femuralen Gelenkknorpel vierundzwanzig Stunden nach intra-artikulärer Injektion von 50 µCi

Tier-Nr. 1

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	79.17±1.140	6.37±2.318	24.86±1.442	3.66±0.151	6.79
Z II a	78.95±2.053	4.87±1.850	12.18±0.560	3.36±0.052	3.62
Z II b	98.36±0.757	7.27±2.748	7.13±0.232	2.43±0.031	2.93
Z II c	97.92±1.488	9.62±2.972	12.26±1.875	2.24±0.117	5.47
Z III	83.33±1.212	4.60±1.293	5.58±0.446	2.19±0.128	2.55
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	87.55±1.398	6.30±2.263	12.40±1.110	2.78±0.106	4.46

Tier-Nr. 2

Meßbereich	LI % $\bar{x} \pm s$	gpc $\bar{x} \pm s$	SDC/100µ² $\bar{x} \pm s$	SDI/100µ² $\bar{x} \pm s$	VI
Z I	83.66±1.365	4.12±1.236	14.63±0.819	2.80±0.093	4.89
Z II a	78.38±1.998	4.81±1.597	13.35±0.667	2.99±0.097	4.46
Z II b	73.08±1.622	6.40±2.079	8.74±0.286	2.67±0.034	3.27
Z II c	86.36±1.959	5.45±1.531	9.11±1.193	1.89±0.098	4.82
Z III	78.26±1.221	5.12±1.618	6.87±0.678	2.12±0.124	3.24
$\bar{\bar{x}} \pm s_{in}$	79.95±1.662	4.83±1.516	10.54±0.785	2.51±0.094	4.20

Herrn Prof. Dr. D.A. Kalbhen gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in seinem Labor und für zahlreiche Anregungen und Hilfen, die zum Gelingen der Arbeit beitrugen.

Dank schulde ich auch Herrn Prof. Dr. U. Schwabe, daß diese Arbeit am Pharmakologischen Institut der Universität Bonn durchgeführt werden konnte.

Herrn Prof. Dr. G. Rücker danke ich für die Genehmigung, die Arbeit im Pharmakologischen Institut anzufertigen und für die Übernahme des Koreferates sowie für sein förderndes Interesse an den vorliegenden Untersuchungen.

Herrn Prof. Dr. W. Mohr, Pathologisches Institut der Universität Ulm, sei für die Einführung in die Histoautoradiographie gedankt.

Weiterhin gilt mein Dank allen Mitarbeitern des Pharmakologischen Instituts der Universität Bonn, die zum Entstehen der vorliegenden Arbeit beigetragen haben. Besonders sei dabei Frau Christina Stichnote erwähnt, der ich für die exakte Erstellung der Graphiken herzlich danke.

Der Firma Robapharm, Basel, danke ich für die finanzielle Unterstützung des methodischen Teils dieser Arbeit.

Für die freundliche Unterstützung bei der Beschaffung humanen Knorpelmaterials möchte ich Herrn Prof. D. G. Biehl, St. Franziskus-Hospital, Köln, danksagen.

L E B E N S L A U F

Name:	Kalkert, Bernhard Josef
geb.:	02.04.1951 in Honigsessen, Kreis Altenkirchen Rheinland Pfalz
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Konfession:	röm. kath.
Familienstand:	verheiratet seit 15.12.1972, Ehefrau Petra Kalkert-Stausberg, 1 Kind: Sohn Benedikt, geb. 27.12.1977
Wohnort:	5216 Niederkassel-Mondorf, Laurentiusstraße 16
Eltern:	Josef Kalkert und Frau Edeltraud, geb. Utsch Vater 1954 verstorben
Beruf der Eltern:	Vater Maschinist, Mutter Hausfrau
schulischer Werdegang:	1957 - 1965 kath. Volksschule Honigsessen Frühjahr 1965 nach 3-tägiger Aufnahmeprüfung Eintritt in die Untertertia des Staatlichen Aufbaugymnasiums Montabaur, am 1. Juli 1970 Reifeprüfung. Während der Gymnasialzeit wohnhaft im Internat Bischöfliches Konvikt Montabaur.
beruflicher Werdegang:	Vom 1. Juli 1970 bis 30. Juli 1972 Apothekerpraktikant in der Hirsch-Apotheke in Wissen/Sieg, danach in derselben Apotheke als Apothekerassistent tätig. Am 1. Oktober 1972 Einberufung zum Wehrdienst beim 2. Sanitätsbataillon Rennerod, Dienstende 31. Dezember 1973.

Vom 1. Januar bis 30. September 1974 Apothekerassistent in der Hirsch-Apotheke in Wissen/Sieg. Ab 1. Oktober 1974 Apothekerassistent in der Jan-Wellem-Apotheke Köln-Mülheim tätig, bis am 12. März 1976 die Immatrikulation an der Rhein. Friedrich-Wilhelms-Universität in Bonn erfolgte. 7. September 1978 erster Abschnitt, 25. September 1979 zweiter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung nach der Approbationsordnung für Apotheker.
Während der Studienzeit regelmäßige Vertretungen an Samstagen in der Center-Apotheke in Köln-Weiden, mittwochs und während der Semesterferien Vertretungen des Apothekenleiters der Marien-Apotheke in Bergisch Gladbach.
Ab Februar 1980 Doktorand unter der wissenschaftlichen Leitung von Professor Dr. Kalbhen am Pharmakologischen Institut der Universität Bonn.

Seit April 1984 als Auslands-Experte für die Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit als Leiter der Apotheke des King Khaled Hospitals in Najran, Saudi Arabien, tätig.